



2 ef.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**IMPLEMENTACION DE UNA MATRIZ POLIMERICA PARA LA ADMINISTRACION
TRANSDERMICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A:
BERNARDINO AGUILAR CARDONA



MEXICO, D.F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO A TODAS Y CADA UNA DE
LAS PERSONAS QUE CREYERON Y APOYARON UN SUEÑO
QUE AHORA SE CONVIERTE EN REALIDAD**

CON RESPETO

BERNA

INDICE

1. INTRODUCCION	I
2. FUNDAMENTACION TEORICA	1
2.1. PIEL	1
2.1.1. EPIDERMIS	2
2.1.1.1. ESTRATO GERMINATIVO (CAPA BASAL)	3
2.1.1.2. ESTRATO GRANULOSO	3
2.1.1.3. ESTRATO ESPINOSO	4
2.1.1.4. ESTRATO CORNEO	4
2.1.1.5. ESTRATO LUCIDO	5
2.1.2. DERMIS	6
2.1.2.1. CAPA PAPILAR	7
2.1.2.2. CAPA RETICULAR	8
2.1.3. HIPODERMIS O GRASA SUBCUTANEA	8
2.2. OBESIDAD	10
2.2.1. CLASIFICACION	10
2.2.2. COMPLICACIONES	11
2.2.3. TRATAMIENTO	11
2.3. ABSORCION TRANSDERMICA	13
2.3.1. METODOS DE ESTUDIO	14
2.3.1.1. METODOS <i>IN VIVO</i>	14
2.3.1.2. METODOS <i>IN VITRO</i>	15
2.3.2. RUTAS DE PENETRACION A TRAVES DE LA PIEL	16
2.3.3. FACTORES FISICOQUIMICOS QUE AFECTAN LA ABSORCION	18
2.3.3.1. SOLUBILIDAD Y COEFICIENTE DE PARTICION DEL PENETRANTE	18
2.3.3.2. CONCENTRACION DEL PENETRANTE	20
2.3.3.3. HIDRATACION DE LA PIEL	21
2.3.3.4. EFECTO DEL VEHICULO	22
2.3.3.5. SURFACTANTES	23
2.3.3.6. POTENCIADORES DE LA PENETRACION	24
2.3.3.7. OTROS FACTORES	25

2.4. SISTEMAS DE LIBERACION TRANSDERMICA	27
2.4.1. CLASIFICACION	29
2.4.1.1. SISTEMAS TRANSDERMICOS TIPO MATRIZ	30
2.4.1.2. SISTEMAS TRANSDERMICOS TIPO RESERVORIO	33
2.5. ISOPROTERENOL	35
2.5.1. NOMBRES QUIMICOS	35
2.5.2. NOMBRE GENERICO	35
2.5.3. FORMULA QUIMICA	35
2.5.4. PESO MOLECULAR	36
2.5.5. ESTRUCTURA QUIMICA	36
2.5.6. PROPIEDADES FISICAS	36
2.5.6.1. DESCRIPCION	36
2.5.6.2. PUNTO DE FUSION (RANGO)	36
2.5.6.3. SOLUBILIDAD	37
2.5.6.4. ACIDEZ	37
2.5.6.5. CONSTANTE DE DISOCIACION	37
2.5.6.6. ESTABILIDAD	37
2.5.7. FARMACOCINETICA	38
2.5.8. TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS	39
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	40
4. HIPOTESIS	41
5. OBJETIVO GENERAL	42
5.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS	42
6. MATERIALES	43
6.1. EQUIPO	43
6.2. MATERIAS PRIMAS	43
6.3. MATERIAL BIOLOGICO	44
7. DIAGRAMA DE FLUJO	45
8. METODO	46
8.1. PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD	46
8.2. FORMULACION DE LA MATRIZ POLIMERICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL	46
8.3. ELABORACION DE LA MATRIZ POLIMERICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL	47

8.4. EVALUACION <i>IN VITRO</i> DE LA DIFUSION DEL CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL EN PIEL DE RATON Y PIEL DE CADAVER	47
8.5. EVALUACION DE LA PRUEBA DE IRRITABILIDAD POR LA MATRIZ POLIMERICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL EN VOLUNTARIOS SANOS	49
9. RESULTADOS	50
10. ANALISIS DE RESULTADOS	56
11. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	60
12. REFERENCIAS	61

I. INTRODUCCION

Los sistemas de liberación transdérmica representan un importante avance tecnológico y terapéutico para la liberación controlada de fármacos a la circulación sistémica a través de la piel. Aunque la piel intacta es mucho menos permeable que otros tejidos, recientemente se ha reconocido su potencial como vía de administración para un número considerable de fármacos sistémicamente activos, para lograr una acción farmacológica localizada, con estos sistemas, el fármaco se absorbe de la piel hacia los capilares que pasan bajo la piel de donde pasarán a la circulación general, lo que permite minimizar la variabilidad asociada a la absorción gastrointestinal y permite mantener niveles constantes del fármaco en sangre.

Generalmente los sistemas de liberación transdérmica comprenden una envoltura externa (barrera impermeable), un reservorio del fármaco que puede o no contener membrana para controlar la liberación del fármaco, un contacto adhesivo aplicado a alguna o a todas las partes del sistema y una capa protectora que se elimina antes de aplicar el sistema a la piel.

Existen cinco tipos de sistemas de liberación transdérmica disponibles comúnmente en el mercado, los cuales caen en dos categorías principales, aquellos en los cuales el fármaco es almacenado en un reservorio (sistemas tipo reservorio), y aquellos en los cuales es almacenado en una matriz polimérica (sistemas tipo matriz).

Aún a pesar de la versatilidad de los sistemas de liberación transdérmica, existen algunas limitantes en cuanto al número de fármacos que pueden ser formulados en tales sistemas. Sin embargo, existen alternativas de diseño que permiten aumentar considerablemente este número de fármacos.

El isoproterenol es la amina simpaticomimética más activa, y tiene efecto casi exclusivamente sobre receptores beta adrenérgicos.

Es un derivado sintético del catecol, que se presenta en forma pura o formando sales, es más potente que la adrenalina aumentando la frecuencia y la fuerza del latido cardíaco, produce vasodilatación en todos los vasos de la economía, sobre todo en el músculo esquelético, es mucho más activo que la noradrenalina para relajar el músculo liso y aumentar la fuerza de contracción del corazón, estimular la lipólisis y la glicogenólisis.

El isoproterenol se absorbe rápidamente cuando se administra por vía parenteral o en forma de aerosol. La absorción de una dosis oral o sublingual es impredecible. Se absorbe pobremente en el estómago, pero se absorbe bien en el intestino delgado, colon proximal, recto y la membrana mucosa de la tráquea.

El isoproterenol a pesar de no ser un buen candidato para desarrollar un sistema de liberación transdérmica, es un buen fármaco para el tratamiento de la obesidad de forma localizada. Se han realizado estudios en los cuales se ha probado con fines lipolíticos a nivel local, obteniendo buenos resultados.

Con esta finalidad, se desarrolló una matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol, para lo cual se desarrollaron las pruebas de compatibilidad principio activo-excipientes a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa, y no se observaron reacciones de incompatibilidad del activo con ninguno de los excipientes ensayados. Con base a esto, se realizaron pruebas variando la concentración de los excipientes dentro de la formulación, hasta obtener la más adecuada. La formulación que presentó las mejores características físicas y de liberación del activo del sistema en piel de ratón y de cadáver humano, fue la siguiente: isoproterenol (4%), polivinilpirrolidona (6%), alcohol polivinílico (21%), propilenglicol (2.5%), glicerol (40%), ácido cítrico (0.05%) y agua.

Una vez elegida la formulación de la matriz polimérica, se realizaron las pruebas de irritabilidad en voluntarios sanos, obteniendo resultados negativos en todos los casos, lo que indica que la matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol es estable e inocua y es un buen candidato para desarrollar un sistema de liberación transdérmica, con los fines lipolíticos a nivel abdominal deseados.

2. FUNDAMENTACION TEORICA

2.1. PIEL

La piel es uno de los órganos más extensos y accesibles del cuerpo humano (1-4), que forma una cubierta hermética e impermeable para todos los tejidos subyacentes a los cuales protege de los cambios del medio externo, a la vez que mantiene la integridad del medio interno. (5-7)

Microscópicamente la piel es un órgano constituido por dos capas histológicas principales: la epidermis y la dermis, y una tercera capa, la hipodermis o tejido subcutáneo que a pesar de no formar parte de la piel, se halla íntimamente ligada a la misma, tanto por sus relaciones anatómicas como funcionales (Figura 1). (1, 2, 4, 6-9)

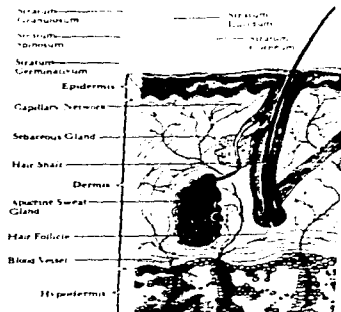


Figura 1. Estructura de la piel

La epidermis y la dermis están constituidas por tejido completamente diferente, se encuentran unidas una con la otra en toda su extensión constituyendo una membrana cohesiva con un espesor que varía desde menos de 0.5 mm a 3 ó 4 mm o más en diversas partes del cuerpo (10), y cubre en promedio (en la edad adulta) cerca de 2 m² de área superficial y recibe aproximadamente una tercera parte del total de la sangre circulante a través del cuerpo humano (1, 2, 4, 5, 8, 10, 11), contiene en su superficie un promedio de 40 a 70 folículos pilosos y de 200 a 250 pequeños ductos por cm², que representan solo el 0.1% de la superficie total de la piel. (1, 8)

2.1.1. EPIDERMIS

La epidermis es la capa superior de la piel y tiene su origen de la capa germinativa ectodérmica (5, 6, 9, 12), consiste de tejido epitelial escamosos estratificado (2, 3, 5, 6, 9, 12), cuyo espesor y uniformidad varía en diversas partes del cuerpo, es más grueso en las áreas sometidas a presión, como las plantas de pies y manos, y delgado en las áreas delicadas, como el párpado. (3, 5)

La epidermis no posee un suministro sanguíneo propio, por lo que depende de la intensa vascularización de la dermis a la que está inmediatamente adyacente (10). Contiene cierto número de enzimas catabólicas y es metabólicamente más activa que la dermis. (2, 13)

En todos los sitios del cuerpo excepto en la palma de las manos y la planta de los pies, la epidermis posee cuatro capas anatómicas a saber, el estrato germinativo, el estrato granuloso, el estrato espinoso y el estrato córneo que es la capa superior de la epidermis expuesta al medio ambiente externo (2, 6, 9, 14). El estrato lúcido que es la quinta capa de la epidermis se presenta únicamente en la palma de las manos y la planta de los pies. (2, 5, 9)

Estas capas epidérmicas forman una cubierta o túnica de espesor variable a medida que las células se dirigen hacia la superficie desde las capas germinativas inferiores. (5)

2.1.1.1. ESTRATO GERMINATIVO (CAPA BASAL)

El estrato germinativo es la capa más profunda de la epidermis que se encuentra en contacto con la dermis (6, 13), está formado por una hilera de células basales, cilíndricas, de citoplasma escamoso, basófilo, y núcleo ovoide o fusiforme muy cromatófilo que se conectan para formar puentes intracelulares (5, 6). Estas células son mitóticamente activas y producen las células epidérmicas que ascienden a la superficie para sustituir a las que gradualmente caen o se desprenden de la superficie de la piel (2, 5). A medida que las células del estrato germinativo ascienden a la superficie, son más grandes y se acumulan gránulos citoplásmicos basófilos, formando con ello la capa granulosa (9)

El borde inferior de esta capa germinativa se desplaza en intervalos irregulares por protusiones dérmicas o papilas, muchas de las cuales contienen corpusculos táctiles, especialmente en áreas donde el sentido del tacto se halla particularmente desarrollado (5)

Entre las células basales, irregularmente intercaladas se aprecian las células claras de Masson o melanocitos, de forma esferoidal con citoplasma muy claro ligeramente basófilo y núcleo redondo oscuro que intervienen en la producción de melanina, que contienen en forma de prepigmento (6, 14) del cual dependen los matices de bronceado de la piel. (5)

2.1.1.2. ESTRATO GRANULOSO

El estrato granuloso es una capa delgada de células, llamado de esta forma porque hay gránulos visibles en el citoplasma celular (2), se compone de unas cuatro hileras de células granulosas de forma romboidal, aplanadas entre el estrato germinativo y las capas córneas superiores (5, 6), que se identifican por su gran cantidad de granulaciones redondas pequeñas intracitoplasmáticas, de basofilia semejante a la cromatina nuclear de la que provienen, pues se ha demostrado que están constituidas por ácido desoxirribonucleico.

El espesor de esta capa es proporcional al de la capa córnea bien constituida (6). No se presentan procesos intercelulares en este estrato, por lo que las células mueren en esta capa. (2, 6)

2.1.1.3. ESTRATO ESPINOSO

El estrato espinoso está constituido por un número variable de hileras de células espinosas de forma poligonal con núcleos vesiculosos que contienen cromatina finamente granular y nucléolo visible, que se disponen en forma de mosaico y se van tornando cada vez más aplanadas conforme se dirigen hacia la superficie. Entre célula y célula existen espacios intercelulares por los que circula la linfa, que de esta forma baña y nutre a las células. (6, 14)

La capa más externa de células espinosas esta probablemente revestida de una unión de proteoglicanos y sustancias grasas. (13)

2.1.1.4. ESTRATO CORNEO

El estrato córneo es la capa superficial de la piel, y por lo tanto el compartimiento protector externo (3) y la mayor fuente de resistencia a la penetración y/o permeación de la piel. (15, 16, 17)

Esta formado por varias capas de células muertas compactadas, aplanadas, deshidratadas y queratinizadas fisiológicamente inactivas y continuamente desprendidas de la superficie con reemplazo constante por la epidermis viable (3, 8, 18), tiene un grosor aproximado de 15 a 20 μ en la mayoría del cuerpo humano (11, 15, 19) y se compone de aproximadamente el 40% de proteínas (principalmente queratina, una proteína dura y resistente que es en realidad una mezcla de proteínas fibrosas y amorfas cuya estructura precisa aún no se ha encontrado) (3), 40% de agua y lípidos (principalmente triglicéridos, ácidos grasos libres, colesterol y fosfolípidos). (11, 20, 19)

El contenido lipídico del estrato córneo se encuentra principalmente en la fase extracelular, formando una gran extensión de membranas alrededor de las células córneas, por lo que se considera el factor responsable de la baja permeación del estrato córneo (20), cuando la absorción de sustancias o fármacos requiere del paso entre o a través de dichas células (21). Las principales funciones del estrato córneo son como barrera física y química para retardar la pérdida de agua de los tejidos subyacentes, reducir al mínimo la penetración de los rayos ultravioleta y limitar la entrada de microorganismos y demás sustancias tóxicas del exterior. (4)

El estrato córneo es por lo general flexible y resistente cuando está húmedo, duro y quebradizo cuando está seco. Normalmente su espesor es mayor en las palmas de manos y las plantas de los pies, sin embargo, puede engrosarse en cualquier sitio como una respuesta a la fricción o presiones repetidas. Si el estrato córneo se seca en exceso, se torna quebradizo y pueden aparecer grietas (resquebrajamiento) en la piel. (3)

Alguna lesión, destrucción o la sucesiva eliminación de las capas del estrato córneo incrementan dramáticamente la absorción de la piel. Estas lesiones del estrato córneo, se pueden presentar debido al contacto de la piel con algunos agentes queratolíticos tales como el ácido salicílico, por el agrietamiento de la piel debido a una extrema deshidratación (cuando el contenido de agua del estrato córneo cae por debajo del 10%), por la acción de algunos solventes deshidratantes tales como el alcohol y la acetona, o por daños físicos tales como ciertas dermatosis.

2.1.1.5. ESTRATO LUCIDO

El estrato lúcido está compuesto por una a tres hileras de células claras aplanadas, descamadas, anucleadas y saturadas de una sustancia especial llamada eleidina (masa acidófila constituida por cuerpos proteicos y sustancias grasas) (5-7), con un espesor de unas 10 μ . Normalmente sólo se encuentra en la piel de la palma de las manos y la planta de los pies, entre los estratos granuloso y córneo, correspondiendo más bien a este último. (2, 6)

El estrato lúcido es muy plástico, y su función consiste en permitir el deslizamiento de la capa córnea sobre el estrato granuloso que es blando. Cuando se acumulan líquidos en el espesor de la epidermis (vesículas, ampollas), puede despegarse la capa córnea a nivel del estrato lúcido. (7)

2.1.2. DERMIS

La dermis es la capa mas sensitiva, gruesa y altamente vascularizada de la piel y tiene su origen en la capa germinativa mesodérmica (5, 9). Se encuentra por debajo de la epidermis y proporciona a la piel gran parte de su consistencia, masa o sensación.

Mientras que la epidermis es casi una banda sólida de células, la dermis esta constituida principalmente por una mezcla semisólida de fibras, agua y un gel llamado sustancia basal, con un espesor que varia de 1 a 4 mm en diferentes sitios anatómicos. (2, 7, 9)

A través de toda la estructura de la dermis pasan vasos sanguíneos y linfáticos, nervios, glándulas y vellos de la piel (5, 7). Envuelve a todo el cuerpo en un gel viscoso protector y puesto que puede ser comprimida y estirada, puede absorber y reducir las fuerzas y tensiones ambientales sobre el cuerpo. También es un sitio de almacenamiento de cantidades importantes de agua del organismo. (7)

Existen tres tipos de fibras que producen las células distribuidas en la dermis: el colágeno, el retículo y la elastina (5, 7, 13, 14). El colágeno constituye una gran parte de la dermis (70% del peso seco) y es la principal fuente de la fuerza mecánica de la piel. Es una gran molécula constituida por fibrillas entrelazadas de tal manera que permiten el estiramiento y la contracción de la piel, manteniendo una fuerza de tensión notable. Sus haces de fibras pasan a través de la dermis proporcionando estructura y firmeza.

También hay distribuidas por toda la dermis fibras de elastina (fibras de proteína) que parecen ser extensibles en forma reversible, de manera que pueden ayudar a la cualidad de elasticidad de la dermis.

La sustancia basal en la cual todas estas fibras descansan, es una mezcla gelatinosa, viscosa, compresible y elástica de agua, mucopolisacáridos y elementos coloidales (7). En la parte más externa de la dermis los haces de colágeno son más pequeños, menos numerosos y dispuestos en forma laxa al azar, lo que permite cierta libertad y adaptación de movimiento a la epidermis. Esta parte de la dermis se denomina *dermis papilar*. (6,7)

El plexo extenso de capilares y nervios diseminados que abandonan los vasos sanguíneos para entrar en la dermis, le dan a esta parte externa un aspecto ligeramente más celular (7). Por abajo de la dermis papilar, las fibras de proteína se vuelven más gruesas y regulares, y se orientan en dirección longitudinal. Esta área más baja y densamente fibrosa se denomina *dermis reticular*.

2.1.2.1. CAPA PAPILAR

La capa papilar es relativamente rica en células y está compuesta de fibras elásticas, colágenas y reticulares ampliamente separadas y rodeadas de una sustancia fundamental viscosa y abundante que contiene ácido hialurónico, sulfato de condroitina y glucoproteínas. La superficie de esta capa lleva la huella negativa de la cara inferior de la epidermis y está moldeada por intrincados surcos y papilas. Cualquier estructura epidérmica (como el pelo) que se introduce abajo de la dermis perforando la capa reticular, está limitada por un segmento de capa papilar.

Diseminados por esta capa, hay numerosos fibroblastos y algunas células sebáceas, macrófagos y melanocitos (9). Los capilares sanguíneos que se encuentran en la capa papilar forman asas u horquillas características, cuya longitud oscila entre 0.2 y 0.4 mm, que sirven no sólo para la oxigenación y recambio metabólico de la epidermis, sino también para cumplir los mismos fines respecto a las terminaciones nerviosas. (7)

2.1.2.2. CAPA RETICULAR

La capa reticular se compone de haces de fibras colágenas en disposición densa más o menos paralelas a la superficie, con capas alternas que corren en diferentes direcciones.

Las células de la capa reticular son las mismas que las de la capa papilar, pero están distribuidas con mayor dispersión. En algunas regiones del cuerpo, se juntan en redes de fibras musculares lisas dentro de la capa reticular. (9)

2.1.3. HIPODERMIS O GRASA SUBCUTANEA

La hipodermis o tejido subcutáneo, no forma parte de la piel pero se halla íntimamente ligada a la misma, tanto por sus relaciones anatómicas como funcionales, puede ser considerada como una capa especializada de tejido conjuntivo en el cual el adipocito es la célula primaria y el elemento principal es la grasa, que es almacenada dentro de estas células. Es semejante a la dermis excepto por la enorme cantidad de grasa almacenada entre los filamentos de proteína, vasos sanguíneos y nervios que se dirigen de los órganos más internos hacia la superficie de la dermis.

El tejido subcutáneo funciona como un aislante para conservar el calor del cuerpo, así mismo, es un excelente amortiguador de choque mecánico que reduce los efectos del traumatismo sobre estructuras profundas, además de servir como una fuente de combustible, cuando no se dispone de calorías adecuadas por vía bucal, el adipocito puede ser destruido para proporcionar energía. (3, 6)

El desarrollo y distribución del tejido adiposo depende del sexo, edad, región corporal, necesidad, influencias hormonales, alimentación y muchos otros factores no muy bien conocidos (3, 6, 7, 13), y aunque tiene una distribución hasta cierto punto generalizada, no lo está con regularidad, sino que predomina en

adiposo más grueso (piel del abdomen, tronco, parte proximal de las extremidades, nalgas, pechos y mejillas), y respeta las zonas donde la piel es más fina (párpados, pene, dorso de manos y pies, parte inferior del cuello y pliegues de flexión) (22). La zona superficial de la hipodermis contiene parte de los folículos pilosos y las glándulas sudoríparas. (12)

Todo el tejido adiposo de un adulto medio, está constituido por cerca de 30,000 millones de adipocitos (célula grasa), cada uno de los cuales contiene una sola gota de triglicérido. (23)

Estudios farmacológicos han revelado que el adipocito contiene varios tipos de receptores adrenérgicos en su superficie: receptores beta-adrenérgicos (principalmente beta-1), que median la estimulación de la enzima adenilciclase e incrementan la lipólisis, y receptores alfa-adrenérgicos que median e inhiben a la enzima adenilciclase y reducen la lipólisis. (24)

La lipólisis es la hidrólisis de triglicéridos intracelulares a ácidos grasos libres y glicerol, ocurre en todos los tejidos del organismo, aunque cuantitativamente alcanza su mayor eficacia en el tejido adiposo (25). El ritmo de la lipólisis depende de una cascada metabólica que finalmente produce la fosforilación y activación de la enzima Lipasa Sensible a Hormona (HSL). Esta cascada se inicia por la fijación de hormonas y metabolitos reguladores a receptores específicos de la superficie celular. Estos receptores inician una señal que sigue por vía de proteínas G específicas y estimula (G_s) o inhibe (G_i) a la adenilciclase. Esta cataliza la formación de Adenosinmonofosfato (AMP) cíclico a partir de Adenosintrifosfato (ATP), que a su vez activa cinasas encargadas de fosforilar HSL. Los activadores de la lipólisis como las catecolaminas, estimulan la cascada lipolítica por vía de receptores beta-adrenérgicos acoplados con G_s , mientras que inhibidores como la adenosina o los agonistas alfa- inhiben la lipólisis vía G_i . (23)

El desarrollo de nuevas técnicas para determinar la morfología y metabolismo del adipocito, han hecho posible estudios que sugieren que el tejido adiposo humano no es homogéneo (26). El tejido adiposo del abdomen es más sensible a los efectos lipolíticos por la estimulación beta-adrenérgica que el presente en el muslo. Esto parece ser debido a la existencia de más receptores beta- en el adipocito del abdomen que el adipocito en el muslo. (27)

2.2. OBESIDAD

La elevada prevalencia de la obesidad y su reconocida repercusión en la morbilidad y mortalidad de la población afectada, sitúa esta patología entre los principales problemas de salud (22, 28-30). La obesidad se define como una acumulación excesiva de tejido adiposo que se traduce en un aumento del peso corporal (31). Entre sus principales causas se encuentran el sedentarismo, problemas genéticos o relacionados al metabolismo y la ingesta excesiva o mal balanceada de alimentos (32), probablemente ésta última sea la causa más frecuente de obesidad. (31)

2.2.1. CLASIFICACION

Existen diversos sistemas o formas de clasificar la obesidad: en función de los rasgos morfológicos del tejido adiposo, en función de la edad de comienzo, en función de la distribución anatómica del tejido adiposo, o según la causa (31). Cuando se consideran las características morfológicas del tejido adiposo para clasificar la obesidad, se distinguen dos tipos diferentes: la obesidad hipertrofica y la obesidad hiperplásica.

La primera se caracteriza porque aumenta el contenido lipídico de las células del tejido adiposo sin que aumente el número de las mismas. La segunda se caracteriza por un aumento en el número de células adiposas que puede acompañarse o no de un mayor contenido lipídico. El primer tipo acostumbra observarse en las obesidades que se desarrollan en la edad adulta, mientras que el segundo tipo es más frecuente en la obesidad que aparece en la infancia. (22, 26, 31)

Desde el punto de vista anatómico-clínico, algunos autores describen dos tipos distintos de obesidad según la distribución corporal de la grasa: la obesidad con predominio de la grasa en la mitad superior del cuerpo denominada obesidad androide, y la obesidad con predominio de la grasa en la mitad inferior del cuerpo denominada obesidad ginecoide.

El primer tipo es más característico en los hombres, mientras que el segundo tipo es característico de las mujeres (26, 30, 31). Algunas de las alteraciones metabólicas y hormonales (hiperlipidemia, diabetes, hipertensión, etc) que acompañan a la obesidad, se presentan con más frecuencia en la obesidad de tipo androide.

En función de la edad de comienzo de la obesidad se distinguen dos tipos: la llamada obesidad infantil, que se inicia en la infancia del sujeto, y la obesidad adulta que se inicia después de la adolescencia.

Se ha observado que la obesidad infantil es más resistente al tratamiento que la iniciada en la edad adulta y tiende a reaparecer siempre que se suspende dicho tratamiento. (31)

2.2.2. COMPLICACIONES

En los últimos años diversas investigaciones han mostrado que el exceso de peso es un factor de riesgo tanto para desencadenar otras enfermedades como posiblemente, para elevar las tasas de mortalidad (31). Las principales complicaciones de la obesidad radican en su frecuente asociación con hipertensión, hiperlipidemia, intolerancia a los carbohidratos, diabetes mellitus, trastornos pulmonares y renales, gota, complicaciones durante el embarazo, así como frecuentes problemas en las articulaciones (artritis, dolor de espalda, dificultades en las caderas, rodillas y tobillos), siendo el riesgo último la muerte. (31, 33)

2.2.3. TRATAMIENTO

El tratamiento de la obesidad persigue básicamente la reducción del contenido adiposo del organismo obeso. En general, los diversos métodos usados en el tratamiento de la obesidad se basan en dos premisas fundamentales:

a) La reducción del contenido adiposo puede conseguirse mediante una disminución del aporte calórico habitual, ya que éste obliga a consumir reservas energéticas almacenadas en el tejido adiposo.

b) La reducción del contenido adiposo puede conseguirse también aumentando el consumo energético, ya que esto condiciona una mayor utilización de las reservas almacenadas en forma de grasa.

Los medios de los que se disponen para conseguir esta disminución del aporte calórico pueden resumirse en cuatro apartados:

1. Dietéticos: elaboración de dietas reguladas para un aporte calórico deficiente.
2. Psicológicos: dirigidos a modificar la conducta alimentaria.
3. Farmacológicos: constituidos por los llamados fármacos anorexígenos.
4. Quirúrgicos: destinados a disminuir la ingesta o la absorción alimentaria.

Sin embargo, el tratamiento de la obesidad debería no solamente reducir el exceso ponderal del paciente, sino que conseguir que esta reducción se mantuviera.

En realidad una proporción importante de pacientes obesos que por alguno de los métodos terapéuticos consigue momentáneamente eliminar el exceso de masa adiposa vuelve con el tiempo a su condición de obeso. Únicamente el tratamiento quirúrgico con *bypass* intestinales es capaz de garantizar una reducción mantenida de peso, pero los inconvenientes y la patología asociada a esta forma de tratamiento lo desaconsejan a no ser en situaciones extremas.

Por estas razones, es importante señalar que en la actualidad no se dispone de un método seguro y con poco riesgo para el tratamiento de la obesidad. La asociación de procedimientos dietéticos, psicológicos y/o farmacológicos suele ser la más utilizada, y acostumbra a producir más éxitos que un procedimiento terapéutico aislado. Sin embargo, tampoco garantizan que el paciente obeso va a dejar de serlo por el resto de su vida. (28, 31)

2.3. ABSORCION TRANSDERMICA

Aunque la piel intacta es mucho menos permeable que otros tejidos, recientemente se ha reconocido su potencial como via de administración de un número considerable de fármacos sistémicamente activos para lograr una acción farmacológica localizada. (1, 8, 21)

Los fármacos tópicamente aplicados se absorben en primera instancia en la circulación sanguínea de donde son transportados hacia el tejido blanco para lograr su acción farmacológica antes de ser eliminados (1, 8, 11, 34). Se cree que una vez que el fármaco ha penetrado el estrato córneo, encontrará poca resistencia a la penetración por otras capas de la piel, y finalmente alcanzará el torrente sanguíneo a través de los capilares en la capa papilar de la dermis. (24)

Flynn describe el proceso de absorción percutánea de la siguiente manera: "Toda sustancia que se aplica tópicamente, difunde pasivamente del portador o vehículo a la superficie de la piel (específicamente al estrato córneo y ductos de la glándulas sebáceas), estableciendo un gradiente de concentración a través de la piel que terminará esencialmente en la microcirculación de la capa dérmica, de la cual pasará a la circulación general, de donde se distribuirá rápidamente para su posterior metabolismo y eliminación".

La absorción percutánea adquiere importancia, si se consideran la gran cantidad de fármacos que pueden ser usados (entre otras tantas aplicaciones), para el tratamiento de enfermedades de la piel a condición de que puedan penetrar y acumularse en una concentración efectiva. La penetración de la piel por fármacos y otras sustancias depende entre otras cosas de: 1) Las propiedades fisicoquímicas del penetrante, 2) el estado general de la piel, y 3) la naturaleza del vehículo. (11, 21, 34)

La penetración de fármacos a través de la piel puede ser aumentada por el incremento de su carácter lipofílico. Sin embargo, la lipofilidad del fármaco puede ser aumentada a tal grado que aunque el fármaco penetre libremente en el estrato córneo, no podrá penetrar las capas viables de la piel a causa de su limitada solubilidad en agua, provocando un decremento de la velocidad de penetración.

Las altas velocidades de penetración son generalmente observadas cuando las moléculas presentan un adecuado balance de afinidades por el agua y los lípidos.

2.3.1. METODOS DE ESTUDIO

Algunos autores clasifican los métodos empleados para medir la absorción percutánea en dos tipos, ensayos *in vitro* y ensayos *in vivo*. Los métodos *in vitro* de manera general tienen un valor limitado, sin embargo, son un medio importante para el estudio de la liberación del fármaco del vehículo bajo las condiciones de prueba. Los métodos *in vivo* presentan una relación más exacta de la absorción percutánea de fármacos, sin embargo, los resultados obtenidos de tales métodos son a menudo algo confusos.

2.3.1.1. METODOS *IN VIVO*

Los métodos *in vivo* más usados para medir la absorción percutánea de sustancias son las técnicas histológicas, que incluyen el uso de trazadores, el análisis de tejidos y fluidos biológicos, y el análisis de respuestas biológicas. El estudio de los cambios en la piel después de la aplicación de varias sustancias en la superficie cutánea puede proporcionar información específica acerca del tejido afectado y la posible ruta de penetración, sin embargo, este método es limitado a colorantes y algunas sustancias que producen productos coloreados perceptibles como resultado de reacciones químicas específicas.

El uso de colorantes, fluorescencia y radioactividad, representan los métodos *tracer* más difundidos en el estudio de la absorción percutánea de sustancias. Estos estudios generalmente son combinados con técnicas de análisis químico o histológico de tejidos y fluidos para lograr mejores resultados. De forma general, estos métodos proporcionan bastante información de la cantidad del fármaco que se mueve a través de la piel, pero escasa o nula información acerca de la ruta de penetración o la localización del fármaco en la estructura de la piel.

El análisis de orina es por mucho el método *in vivo* más frecuentemente usado. Aunque el análisis de orina en un método extremadamente valioso, se debe tener extremo cuidado en el manejo de la muestra, ya que existe la posibilidad de que cierta cantidad del fármaco aplicado tópicamente no aparezca en la orina debido a que pudo ser metabolizado y por lo tanto no ser detectado durante el análisis. Por lo que es necesario investigar la relación existente entre la cantidad absorbida y excretada antes de realizar las mediciones en orina. (11, 34)

2.3.1.2. METODOS *IN VITRO*

El uso de celdas de difusión es la principal técnica *in vitro* para el estudio de la penetración de sustancias a través de la piel. En este tipo de estudio, se colocan muestra de piel humana o de alguna especie animal en la celda de difusión como soporte y un líquido como receptor, en el cual se determina la cantidad de sustancia que a difundido a través de la piel a diferentes tiempos. (11)

La principal desventaja de las técnicas *in vitro* es que proveen poca información acerca del metabolismo y distribución del fármaco, y no existe la posibilidad de estudiar alguna respuesta fisiológica o farmacológica de una sustancia después de la absorción. La principal ventaja de este tipo de ensayos, es que las condiciones experimentales pueden ser controladas fácilmente, y los parámetros matemáticos y fisicoquímicos relacionados con la absorción de la piel pueden ser establecidos con facilidad. (15)

La mayoría de los ensayos de permeación de la piel *in vitro*, son realizados en celdas de difusión de Franz (Figura 2) (15, 35). Esta celda consta de un compartimiento receptor, rodeado por una chaqueta de calentamiento y un sistema de agitación. El compartimiento receptor consta de un volumen efectivo aproximado de 10-12 ml, y una área superficial efectiva para la permeación que varía de 1.57 a 4.71 cm². La solución en el compartimiento receptor se agita de forma general a una velocidad de 600 r.p.m. en el caso de líquidos de baja densidad como solución salina. La temperatura de la solución receptora se mantiene constante con la ayuda de la chaqueta colocada alrededor del compartimiento receptor. (35)

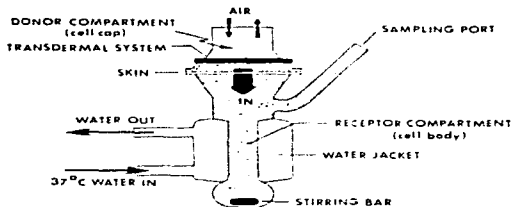


Figura 2. Celda de difusión de Franz.

Este tipo de celdas de difusión es adecuado para medir la penetración de fármacos a través de la piel en diferentes formas farmacéuticas, que incluyen soluciones, suspensiones, polvos, cremas, geles, ungüentos, aerosoles y sólidos que han sido depositados en algún solvente. Recientemente se han realizado modificaciones a este sistema para eliminar algunas deficiencias existentes, particularmente para su uso con sistemas de liberación transdérmica. (15)

2.3.2. RUTAS DE PENETRACION A TRAVES DE LA PIEL

El estudio de la absorción percutánea de fármacos, requiere de considerar las rutas y mecanismos de absorción, así como los parámetros que afectan este proceso. Desde el punto de vista anatómico, existen varias rutas posibles para la absorción percutánea de fármaco (Figura 3). De manera general existen dos rutas posibles para la absorción de sustancias a través de la piel: La ruta transepidérmica y la ruta de penetración a través de los apéndices de la piel. (11, 15, 19-21, 34)

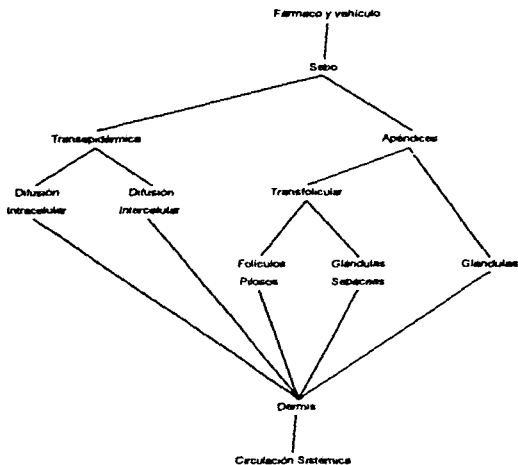


Figura 3. Rutas posibles para la absorción percutánea de fármacos. (Waseem A M, Smith E R. Topical drug delivery systems «skin»)

La primera de ellas, la ruta transepidérmica se refiere a la penetración de sustancias a través de las células o canales intercelulares epidérmicos, por lo que es la mejor ruta de penetración transdérmica.

La segunda ruta por otro lado, se refiere a la penetración de sustancias, vía los apéndices de la piel, que envuelve estructuras tales como folículos pilosos, glándulas sudoríparas y polisebáceas, que a pesar de ocupar solo el 0.2 y 0.4% de la superficie de la piel respectivamente, son de gran importancia principalmente en la fase inicial de la penetración de sustancia a través de la piel. Estos apéndices representan una vía o desviación paralela potencial a la rápida penetración o difusión de fármacos a través de la piel, a causa de su alta permeabilidad. Sin embargo, sólo representan una muy pequeña superficie de absorción, que es de 100 a 10,000 veces menos que el estrato córneo (11, 21, 34). debido a esto, la ruta transepidermica aunque mas lenta, permanece como la principal ruta, con los apéndices teniendo un rol relativamente menor. (21)

Sin embargo, la ruta de penetración que una sustancia en particular puede tomar y la importancia relativa de una con otra, depende casi exclusivamente de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y de las condiciones de la piel. Bajo condiciones apropiadas, alguna de estas rutas de permeabilidad, puede cambiar y ser la ruta dominante. (11)

2.3.3. FACTORES FISICOQUIMICOS QUE AFECTAN LA ABSORCION

Las propiedades físicas del fármaco que pueden influir en la absorción transdérmica incluyen, la solubilidad del fármaco en el vehículo, la concentración efectiva en el sitio de absorción, y el coeficiente de partición estrato córneo/vehículo.

2.3.3.1. SOLUBILIDAD Y COEFICIENTE DE PARTICION DEL PENETRANTE.

Las características de solubilidad de un fármaco en el vehículo, influyen notablemente en su facilidad para penetrar la piel, y determinan la concentración del fármaco en el sitio de absorción, afectando de esta manera el grado y la velocidad de absorción percutánea.

Se ha observado que la permeabilidad a través de la piel, esta directamente relacionada con el coeficiente de partición lípido/agua de muchos fármacos. El coeficiente de partición es un índice de la solubilidad relativa del fármaco en el vehículo y el estrato córneo, que tiene una profunda influencia en la transferencia del fármaco del vehículo a la piel.

Usualmente los coeficientes de partición se determinan en un sistema compuesto por dos fases en contacto una con otra, donde una de las fases es agua y la fase restante es un lípido como aceite vegetal, éter, octanol, cloroformo o benceno el cual representa la piel. Realmente el único coeficiente de partición que puede ser exactamente relacionado a la velocidad de difusión del fármaco a través de la piel, es el valor determinado por el equilibrio de distribución del penetrante entre el vehículo y el estrato córneo.

Los coeficientes de partición determinados experimentalmente reflejan no sólo la solubilidad relativa del penetrante en el estrato córneo, sino que además ponen de manifiesto las posibles interacciones (formación de enlaces o reacciones de complejación) entre el penetrante y la piel o el vehículo.

El coeficiente de partición piel/vehículo de un fármaco es aproximadamente proporcional a la solubilidad relativa del fármaco en el estrato córneo y el vehículo, y puede en un momento dado ser considerado como un índice de la baja o elevada afinidad del fármaco por el vehículo.

La magnitud del coeficiente de partición para la gran mayoría de fármacos es muy variable, con valores que van del rango de menos de 1 a valores mucho mayores que 1. De manera general, los fármacos con valores pequeños de coeficiente de partición, tenderán fuertemente a permanecer en el vehículo y como consecuencia presentarán velocidades de penetración bajas, mientras que los fármacos con valores altos de coeficiente de partición, tendrán una escasa afinidad por el vehículo, por lo que sus velocidades de penetración serán mayores. Sin embargo, modificando las características de solubilidad, cambios estructurales del fármaco o alterando la composición del vehículo, se puede lograr un incremento en los valores del coeficiente de permeación piel/vehículo para aquellos fármacos con velocidades de penetración bajas.

La importancia del coeficiente de partición puede no ser enfatizada, pero algunas veces deberá tenerse en mente que la absorción percutánea de fármacos depende de la interrelación de varios parámetros fisicoquímicos.

La interrelación de la solubilidad de un fármaco en el vehículo y su coeficiente de partición provee un excelente ejemplo de este concepto y debe ser considerado en el diseño de una forma de dosificación tópica. (21)

2.3.3.2. CONCENTRACION DEL PENETRANTE

El gradiente de concentración del fármaco en el vehículo y la piel, es generalmente la fuerza que permite la difusión del fármaco del vehículo al sitio de absorción y su posterior penetración a través de la piel, por lo que un fármaco disuelto en concentraciones altas en el vehículo, presentará velocidades de absorción elevadas.

Sin embargo, la concentración de saturación del fármaco en el vehículo, deberá ser la concentración máxima disuelta posible, que tendrá como resultado velocidades de absorción elevadas en comparación con otras concentraciones.

Aunque la concentración del fármaco en el vehículo es un factor importante, existen muchos otros factores que influyen significativamente en la concentración efectiva del fármaco disponible para su absorción. La posible complejación del fármaco con algún componente del vehículo es un factor que puede causar bajas concentraciones efectivas del fármaco en el sitio de absorción. En el caso de fármacos iónicos, debido a su relativa solubilidad lipídica, sólo la forma no ionizada puede penetrar la piel en cantidades significativas, por lo que la concentración efectiva de las especies a difundir de un fármaco iónico disuelto en un vehículo acuoso, dependerán de la constante de disociación del fármaco al pH del vehículo.

En los vehículos tipo emulsión, la concentración del fármaco en la fase externa del vehículo es el factor limitante de la penetración del fármaco a través de la piel, debido a que esta fase es la que se encuentra en contacto directo con la piel.

Pueden también ocurrir cambios en la concentración efectiva del fármaco en el sitio de absorción por factores tales como la pérdida de compuestos volátiles del vehículo, la captación de agua por el vehículo ya sea de la piel o la atmósfera, o por la inversión de fases en el caso de vehículos tipo emulsión.

Se ha encontrado que la penetración de fármacos disminuye notablemente cuando se ha prevenido la evaporación de los componentes volátiles por oclusión, esto sugiere que la evaporación de algún componente del vehículo después de su aplicación en la piel, incrementará la concentración efectiva del fármaco en el sitio de absorción. (21)

2.3.3.3. HIDRATACION DE LA PIEL

La piel normal funciona como una barrera dependiendo de su facilidad para retener agua. Esta propiedad de la piel, es debida a ciertos componentes del estrato córneo. El contenido normal de agua del estrato córneo es del 10 al 20% de su peso, esta mínima hidratación es crítica para mantener la textura, suavidad y función normal de la piel.

Cuando el contenido de agua del estrato córneo se encuentra por debajo de este nivel mínimo, la piel se reseca y agrieta, esto puede suceder si la humedad relativa del medio ambiente es baja. Se cree que la humedad relativa y no la cantidad absoluta de humedad determina el contenido de agua de la capa córnea. Un aumento en la hidratación de la piel, generalmente producirá un incremento en la absorción percutánea, esto se puede conseguir, remojando la piel en agua o aplicando una cubierta oclusiva que prevenga la pérdida de agua.

Las cubiertas oclusivas tales como lanolina, petrolato, grasas y aceites aplicadas sobre la piel pueden incrementar la retención de agua en el estrato córneo en un 50% o más, como resultado de la difusión del agua de las capas inferiores de la piel o la acumulación de agua por transpiración. Además pueden incrementar la temperatura superficial de la piel, debido al decremento de la evaporación de agua local y el incremento del flujo sanguíneo dentro de las capas dérmicas facilitando de esta forma la absorción percutánea.

La hidratación excesiva del estrato córneo produce el efecto de hinchazón de las células debido a que estas probablemente absorben gran cantidad de agua en la capa de queratina intracelular y tal vez en otras capas de proteínas, formando una región polar rica en agua, reduciendo de esta forma la densidad de su estructura y su resistencia a la difusión. El resultado de todos estos factores es el cambio de solubilidad e incremento del coeficiente de difusión del fármaco. Se ha estimado que la oclusión puede incrementar la absorción percutánea en un factor de 5 a 10.

De esta forma, cualquier factor que pueda alterar el estado de hidratación de la piel tendrá un efecto pronunciado sobre la absorción percutánea de fármacos.

2.3.3.4. EFECTO DEL VEHICULO

Un vehículo puede influir en la absorción percutánea por su efecto sobre el fármaco y la piel, este punto pone de manifiesto la importancia de estimar el sistema de liberación en su totalidad y no sólo las características fisicoquímicas del fármaco, cuando se desea evaluar la absorción transdérmica del fármaco.

Generalmente la liberación del fármaco del vehículo es mayor si este se encuentra completamente disuelto, que cuando se presenta como partículas sólidas parcialmente disueltas.

El coeficiente de partición del fármaco entre la fase dispersa y la fase continua adquiere importancia en el vehículo debido a que influye notablemente en la concentración efectiva del fármaco disponible para su absorción en la superficie de la piel. Si el fármaco es muy soluble en el vehículo, puede tener tal afinidad que no pueda liberarse del vehículo, y en este caso el coeficiente de partición estrato córneo/vehículo será muy pequeño y desfavorable para la absorción. El vehículo puede alterar la propiedad de barrera de la piel, al modificar el estado de hidratación de la misma, debido a esto las grasas, aceites y bases de parafina que son vehículos muy oclusivos pueden favorecer la absorción percutánea, al incrementar la cantidad de agua en la piel.

La evaporación de agua de las emulsiones aceite en agua, lociones o geles, y la evaporación de alcohol de las soluciones alcohólicas después de su aplicación en la piel, tendrá como consecuencia cambios en la naturaleza del sistema de liberación y por lo tanto puede afectar potencialmente la concentración efectiva del fármaco disponible en el sitio de absorción.

2.3.3.5. SURFACTANTES

Los surfactantes incorporados en las preparaciones tópicas de manera general incrementan la permeabilidad y la absorción percutánea de fármacos. Los surfactantes pueden afectar la absorción de fármacos a través de la piel al alterar la solubilidad y la concentración efectiva del fármaco en el vehículo, por el incremento de la humedad o por alterar las funciones de barrera de la piel, mediante interacciones membrana-surfactante.

La solubilidad del fármaco puede ser incrementada por solubilización micelar, sin embargo, el factor primario parece ser el incremento de la permeabilidad de la piel, consecuencia de la facilidad de los surfactantes de alterar la estructura del estrato córneo, al enlazarse a las proteínas de la membrana celular. Se ha sugerido que algunos surfactantes también pueden desnaturalizar las proteínas del estrato córneo (queratina) y por lo tanto incrementar la absorción percutánea. Concentraciones tan bajas como del 1% de surfactantes aniónicos y catiónicos pueden dañar la estructura de la piel.

Aunque los surfactantes son ampliamente usados como humectantes y agentes emulsificantes en algunas preparaciones tópicas, su uso como potenciadores de la penetración exclusivamente no es tan extenso, debido a que: 1) son irritantes de la piel en elevadas concentraciones (los surfactantes no iónicos son menos irritantes), 2) producen un decremento del coeficiente de partición estrato córneo/vehículo debido al incremento de la afinidad del fármaco por el vehículo en ciertos casos, y 3) a la posible complejación de las moléculas del fármaco con el surfactante. Los surfactantes son más efectivos como auxiliares de la absorción cuando el fármaco es pobremente soluble en el vehículo.

El tetradecil sulfato de sodio, propilenglicol, polisorbatos y ésteres alquílicos, son algunos de los surfactantes más usados en el desarrollo de productos tópicos.

2.3.3.6. POTENCIADORES DE LA PENETRACION

Los potenciadores o acelerantes de la penetración son aquellas sustancias que incrementan la penetración de ciertas sustancias o fármacos cuando son aplicados tópicamente por tener un efecto directo sobre la permeabilidad de la piel.

Algunos de los potenciadores más conocidos son el Dimetil Sulfoxido (DMSO), Dimetil acetamida (DMA), y Dimetil formamida (DMF).

Estos potenciadores o acelerantes pueden actuar por efecto químico directo sobre la piel, o afectando las propiedades fisicoquímicas del fármaco o el sistema de liberación. Se conoce que el alcohol, éter y benceno alteran la función de barrera de la piel por la remoción de los lípidos en el estrato córneo. Sin embargo, el uso de potenciadores de la penetración es generalmente limitado debido a que existen muy pocos potenciadores o acelerantes que puedan incrementar la absorción percutánea sin dañar o irritar la piel.

2.3.3.7. OTROS FACTORES

La absorción transdérmica de fármacos puede ser afectada por muchos otros factores entre los que se encuentran: 1) el sitio y duración de la aplicación del sistema en la piel, 2) la condición general de la piel, 3) la temperatura de la piel, y por último, 4) la biotransformación del fármaco en la piel.

El sitio de aplicación del fármaco puede tener una influencia en la absorción percutánea dependiendo del grosor del estrato córneo y la densidad de los apéndices de la piel, aunque estos últimos no son un factor muy importante en la absorción percutánea. Generalmente, los disolventes de la capa córnea de la piel aumentan la permeabilidad en el sitio de aplicación.

La absorción percutánea también depende del tiempo en que el sistema este en contacto con la piel. En muchos casos, a mayor tiempo de contacto del sistema con la piel, mayor será la cantidad del fármaco absorbida.

Otro factor importante que puede afectar la absorción percutánea es la condición general de la piel. La presencia de alguna lesión en las capas superiores de la epidermis debida a daños físicos o algún estado de enfermedad, reducirá notablemente las funciones de barrera de la piel y consecuentemente incrementará su permeabilidad.

Cualquier factor externo que tenga como resultado el engrosamiento del estrato córneo puede disminuir la absorción percutánea de la piel, por ejemplo, una deshidratación de la piel en edad avanzada o alguna condición de la piel como callosidades.

La temperatura de la piel puede también afectar notablemente la absorción percutánea de fármacos. En un medio ambiente frío la piel expuesta al sistema presentará baja permeabilidad a las moléculas del fármaco, mientras que en un medio ambiente cálido la permeabilidad de la piel a las moléculas del fármaco se verá incrementada notablemente.

El incremento de la permeabilidad de la piel en temperaturas cálidas, es consecuencia de una vasodilatación acompañada por el incremento del flujo sanguíneo y mayor difusión de las moléculas del fármaco.

En el pasado, la biotransformación de fármacos y sustancias en la piel después de su aplicación tópica, ha sido una área de estudio muy descuidada, sin embargo, recientemente se ha despertado el interés en este campo de estudios. (11, 21, 34)

2.4. SISTEMAS DE LIBERACION TRANSDERMICA

Los sistemas de liberación transdérmica de fármacos son formas de dosificación discretas e independientes que cuando se aplican a la piel intacta liberan el fármaco a través de la piel a una velocidad controlada hacia la circulación sistémica. (36)

Estos sistemas son diseñados para mantener el paso de un fármaco de la superficie y a través de varias capas de la piel hacia la circulación sistémica

El primero de estos sistemas de liberación transdérmica fue diseñado, desarrollado y comercializado por la compañía ALZA en el año de 1980, para liberar escopolamina para el tratamiento y control de náuseas y vómitos. (20)

Los sistemas de liberación transdérmica representan un importante avance tecnológico y terapéutico para la liberación controlada de fármacos a la circulación sistémica a través de la piel intacta.

Con las formas de dosificación convencionales (tabletas, capsulas), la cantidad de fármaco absorbida a través del tracto gastrointestinal (GI) varía dependiendo de la cantidad y tipo de alimento en el estómago, del tiempo de tránsito y motilidad GI y de la flora microbiana que puede destruir algunos agentes farmacológicamente activos. En el caso de fármacos con alta extracción hepática, se corre el riesgo de que sean desactivados antes de alcanzar la circulación sistémica por efecto del metabolismo de primer paso, por lo que la absorción de fármacos a través del tracto GI puede resultar en niveles sanguíneos variables e impredecibles.

Algunos de estos inconvenientes pueden ser minimizados por la administración de tabletas o cápsulas de liberación controlada, sin embargo, estas formas de dosificación no pueden eliminar la variabilidad asociada con el efecto del metabolismo de primer paso. (37)

La infusión intravenosa continua de fármacos se ha reconocido como un modo superior de liberación de fármacos. Es capaz no sólo de evitar la posibilidad de incompatibilidades GI y metabolismo de primer paso, sino que también logra niveles constantes y prolongados del fármaco en sangre. Sin embargo, tal modo de liberación de fármacos presenta ciertos riesgos potenciales, por lo que se requiere de estrecha vigilancia médica de los pacientes. (8)

Con los sistemas transdérmicos, el fármaco se absorbe de la piel hacia los capilares que pasan bajo la piel y luego hacia la circulación general, lo que permite minimizar la variabilidad asociada a la absorción GI y permite mantener niveles constantes del fármaco en sangre (37), además evitan los riesgos e inconvenientes de la terapia intravenosa, permiten la administración de fármacos con vidas medias cortas y rangos terapéuticos estrechos, son útiles cuando se contraindica o se tiene que evitar la terapia oral, simplifican el régimen de dosificación y permiten el rápido término de la terapia.

Sin embargo, la liberación transdérmica no es práctica ni recomendada cuando se requieren liberar grandes cantidades del fármaco, cuando el fármaco o la formulación irritan o sensibilizan la piel, cuando el fármaco es metabolizado en la piel o cuando el tamaño molecular del fármaco es lo bastante grande para impedir la difusión de la moléculas a través de la piel. (20, 37-39)

Generalmente los sistemas de liberación transdérmica comprenden una envoltura externa (barrera impermeable), un reservorio del fármaco que puede o no contener membrana para controlar la liberación del fármaco, un contacto adhesivo aplicado a alguna o a todas las partes del sistema y una capa protectora que se elimina antes de aplicar el sistema a la piel. (36)

El diseño, desarrollo y éxito de los sistemas de liberación transdérmica, puede ser trazado por cuatro factores estrechamente interrelacionados: a) la formulación del sistema, b) la farmacocinética del fármaco, c) las características de la piel, y d) la adhesión del sistema a la piel. (39)

2.4.1. CLASIFICACION

Existen dos tipos básicos de sistemas de liberación transdérmica en relación a la velocidad de liberación del fármaco: 1) aquellos que controlan la velocidad de liberación del fármaco a la piel, y 2) aquellos que permiten que la piel controle la velocidad de absorción del fármaco.

El segundo tipo de sistemas de liberación transdérmica es útil cuando se requiere dosificar algún fármaco con un amplio rango de concentraciones plasmáticas sobre las cuales el fármaco es efectivo pero no tóxico. Para este tipo de fármacos, los sistemas de liberación transdérmica, pueden ser diseñados y desarrollados en varios tamaños y dosis, hasta obtener el efecto terapéutico deseado.

Sin embargo, para muchos fármacos es importante controlar más estrecha y predeciblemente la velocidad de liberación del sistema y su absorción percutánea, por lo que en estos casos, los sistemas de liberación transdérmica son diseñados y desarrollados para controlar la velocidad de liberación del fármaco a la piel para su subsecuente absorción

Los sistemas de liberación de este tipo, liberan cantidades uniformes del fármaco a la piel por un periodo de tiempo determinado. La cantidad de fármaco liberado del sistema por unidad de tiempo deberá ser menor que la cantidad de fármaco absorbible por varios tipos de piel, y de esta forma, el sistema de liberación y no la piel controlará la cantidad de fármaco que será absorbido y que alcanzará la circulación general. (20)

Tecnológicamente existen cinco tipos de sistemas de liberación transdérmica disponibles comúnmente en el mercado. Sin embargo, siendo más precisos, hay sólo dos conceptos básicos en el diseño de los sistemas de liberación transdérmica: 1) los sistemas de liberación tipo reservorio y 2) los sistemas de liberación tipo matriz. Los demás tipos de sistemas de liberación caen dentro de estas dos categorías. (1, 20, 39)

2.4.1.1. SISTEMAS TRANSDERMICOS TIPO MATRIZ

Los sistemas de liberación transdérmica tipo matriz de manera general están compuestos por una matriz de polímeros hidrofílicos o lipofílicos en la cual el fármaco se dispersa uniformemente, un cojinete absorbente, una película fina de material impermeable y dos películas finas de aluminio como capas protectoras.

La mayoría de las veces éstos sistemas no contienen un capa adhesiva, pero en su lugar contienen un adhesivo colocado por toda la periferia del sistema de liberación.

Hymes y Rolf describen la matriz polimérica como una esponja molecular de celdas abiertas que contienen en su interior una dispersión o solución del fármaco en un disolvente, en donde las moléculas del solvente se organizan en la red polimérica de tal forma que el fármaco disperso o disuelto se retiene en los microespacios de la red polimérica. La orientación y organización de las moléculas del fármaco y solvente en la red polimérica, se ve afectada en gran parte por el grado de ionización y composición de los polímeros. (40)

Los polímeros comúnmente más usados para la elaboración de una matriz polimérica son, polivinilpirrolidona, poliésteres, polipropilenos porosos, cloruro de polivinilo y algunos polisacáridos. (39)

Los sistemas de liberación tipo matriz pueden ser diseñados de dos formas, con o sin exceso de fármaco en la matriz que servirá para mantener el equilibrio de solubilidad y el gradiente de concentración del fármaco en el estrato córneo en el sitio de aplicación.

Los sistemas de matriz sin exceso de fármaco son diseñados para mantener la saturación del estrato córneo sólo mientras que la concentración del fármaco presente en el sistema exceda los límites de solubilidad del estrato córneo en el sitio de aplicación. Sin embargo como la concentración del fármaco en el sistema disminuye con el tiempo por debajo del límite de saturación de la piel, el transporte del fármaco del sistema a la piel decrece gradualmente.

Los sistemas de matriz con exceso de fármaco, son diseñados con una reserva del fármaco en el sistema para asegurar la continua saturación del estrato córneo en el sitio de aplicación. En estos casos, la liberación del fármaco del sistema disminuye más lentamente que en los sistemas diseñados sin exceso de fármaco (1), por lo que la mayoría de los sistemas transdérmicos tipo matriz son diseñados con un exceso de fármaco, para asegurar la continua y efectiva disponibilidad y absorción del fármaco en el sitio de aplicación por un periodo de tiempo mayor al recomendado antes de reemplazar el sistema por uno nuevo. (20)

El método de elaboración de los sistemas transdérmicos tipo matriz es muy fácil y sencillo. De manera general, el fármaco se disuelve o mezcla con los polímeros y el plastificante, y se deja secar por un periodo de tiempo adecuado para formar la matriz, una vez gelificada la matriz polimérica se corta en la forma deseada (cilíndrica, cuadrada, etc.) en unidades de dosificación individuales que se unen a los demás componentes del sistema, para finalmente ser ensambladas entre dos capas protectoras (capa frontal y capa posterior).

La capa posterior es de material impermeable que funciona como barrera de protección para los componentes del sistema. La capa frontal sirve únicamente de protección mientras el sistema es colocado en el sitio de aplicación. Los sistemas de liberación así elaborados exponen de manera constante una superficie de la matriz polimérica (capa frontal), que permite la liberación continua de las moléculas del fármaco del sistema a la piel. (1)

Las principales características que debe cumplir una matriz polimérica para ser usada en la formulación de un sistema de liberación transdérmica, son las siguientes:

- * Debe ser estable y capaz de mantener el fármaco en condiciones estables.
- * No debe irritar la piel y debe adherirse bien para proveer una buena unión entre la piel y el fármaco.
- * No deben presentarse interacciones químicas entre los polímeros y el fármaco.

- * El peso molecular, grupos funcionales y la orientación de los polímeros deben ser las adecuadas para liberar las partículas del fármaco de la matriz.
- * Debe mantener su integridad a altas temperaturas y humedades.

Los componentes críticos en el diseño de un sistema transdérmico de liberación tipo matriz, caen en cuatro categorías: a) empaques de aluminio, b) cojinete absorbente, c) componentes de adhesión, y d) la matriz polimérica.

Las películas finas de aluminio funcionan como empaques de protección y base de la matriz. La matriz polimérica es envuelta completamente por estos dos componentes durante su vida útil. Al momento de la aplicación, la película de aluminio de protección se despegando dejando al descubierto una de las caras de la matriz polimérica que entrará en contacto con la piel.

Las películas de aluminio sirven además para eliminar la posibilidad de que algún componente volátil de la matriz pueda evaporarse. La película base es colocada detrás de la matriz para servir como barrera de la matriz y algún otro componente líquido de la matriz.

La pérdida de agua transepidermica, así como la sudoración, pueden incrementar la humedad en la interface sistema/piel en el sitio de aplicación, que puede afectar notablemente la adhesión del sistema a la piel, éste problema se puede solucionar al formular el sistema con un adhesivo microporoso o un cojinete absorbente que servirá para evitar la entrada excesiva de humedad al sistema y mantener así, una buena adhesión del sistema al sitio de aplicación durante su uso. (39)

El adhesivo de manera general se coloca en la periferia de la matriz para proveer adhesión del sistema a la piel.

2.4.1.2. SISTEMAS TRANSDERMICOS TIPO RESERVORIO

En los sistemas de liberación transdérmica tipo reservorio, el fármaco es almacenado en un reservorio del cual difunde a través de una membrana limitante al sitio de absorción (39). En general, este tipo de sistemas es bueno cuando el estrato córneo no es la principal barrera limitante a la difusión del fármaco, y además, se desea el control de la velocidad de liberación por el sistema.

Una de las ventajas de este tipo de sistemas es la liberación casi constante del fármaco del sistema. Sin embargo, la ruptura de la membrana de control puede provocar una rápida y no deseada liberación del fármaco del sistema (39). Frecuentemente se coloca una pequeña cantidad del fármaco en la capa adhesiva del sistema tipo reservorio, que servirá para iniciar la absorción del fármaco en el sitio de aplicación, y lograr así el efecto terapéutico más rápidamente.

Básicamente los sistemas de liberación transdérmica tipo reservorio están compuesto por un reservorio del fármaco, usualmente en forma líquida, partículas sólidas del fármaco puro o en forma de gel, una membrana impermeable de respaldo, una membrana semipermeable de control, una capa adhesiva, y una película fina de protección. (1, 20, 39)

Los sistemas tipo reservorio pueden ser preparados por la preconstrucción de las unidades del sistema, el llenado del reservorio del fármaco y el sellado del sistema, o por un proceso de laminación que comprende un continuo proceso de construcción, dosificación y sellado. (20)

Existen algunas variantes técnicas en el diseño de los sistemas de liberación transdérmica tipo reservorio. Una de ellas es un sistema que consiste de tres capas de polímeros, en donde la capa central es el reservorio del fármaco, que se encuentra cubierto en uno de sus extremos por una membrana impermeable que funciona como barrera, y una membrana semipermeable por el extremo posterior, que sirve de control de la liberación del fármaco del sistema a la piel. En la capa de control contiene un anillo adhesivo periférico para asegurar el sistema a la piel.

La ventaja de este sistema es su flexibilidad, la facilidad de usar reservorios líquidos o sólidos y la posibilidad de variar la velocidad de liberación del fármaco variando las cantidades de los polímeros en el reservorio y la capa de control.

Otra variedad de los sistemas tipo reservorio son los sistemas multireservorio. Estos sistemas tienen la característica de contener un potenciador de la penetración en el compartimento adyacente al reservorio del fármaco. En este tipo de sistemas, la membrana de control además de ser permeable al fármaco, controlará la velocidad de permeación vehículo/potenciador del sistema. (39)

2.5. ISOPROTERENOL

El isoproterenol es la amina simpaticomimética más activa, y tiene efecto casi exclusivamente sobre receptores beta-adrenérgicos, en virtud de su sustitución N-alquílica (41). Es un derivado sintético del catecol, que se presenta en forma pura o formando sales (clorhidrato y sulfato). (42)

2.5.1. NOMBRES QUIMICOS

- * 4-(1-Hidroxi-2-((1-Metiletil)-Amino) Etil)-1,2-bencenodiol.
- * 3,4-Dihidroxi-alfa-((Isopropilamino) Metil) Bencilalcohol.
- * 1-(3,4-Dihidroxifenil)-2-Isopropilaminoetanol.
- * Isopropilaminometil-(3,4-Dihidroxifenil) Carbinol.
- * N-Isopropil-beta-Dihidroxifenil-beta-Hidroxietanolamina.
- * Dihidroxifeniletanol isopropilamina.

2.5.2. NOMBRE GENERICO

- * Isoprenalina, Isoproterenol, Isopropilarterol, Isopropil noradrenalina, Isopropil noradrenalina.

2.5.3. FORMULA QUIMICA

- * Isoproterenol base: $C_{11}H_{17}NO_3$
- * Clorhidrato de Isoproterenol: $C_{11}H_{17}NO_3 \cdot HCl$

2.5.4. PESO MOLECULAR

* Isoproterenol base: 211.24 g/mol.

* Clorhidrato de Isoproterenol: 247.72 g/mol.

2.5.5. ESTRUCTURA QUIMICA



2.5.6. PROPIEDADES FISICAS

2.5.6.1. DESCRIPCION

El clorhidrato de isoproterenol se presenta como polvo cristalino blanco o casi blanco, con ligero sabor amargo, que oscurece en exposición al aire y luz. Las soluciones acuosas de clorhidrato de isoproterenol se tornan café-rojizas bajo prolongada exposición al aire o bajo la adición de álcalis.

2.5.6.2. PUNTO DE FUSION (RANGO)

* Isoproterenol base: 168°, 155.5°, 165-170°

* Clorhidrato de Isoproterenol: 170-171°

2.5.6.3. SOLUBILIDAD

El clorhidrato de isoproterenol es poco soluble en etanol absoluto, 1 gramo se disuelve en 3 ml de agua, y en 50 ml de etanol al 95%; es prácticamente insoluble en cloroformo, éter y benceno.

2.5.6.4. ACIDEZ

El pH de una solución acuosa de clorhidrato de isoproterenol al 1% es cercano a 5.

2.5.6.5. CONSTANTE DE DISOCIACION

8.6, 10.1, 12.0 (20°). (41, 43)

2.5.6.6. ESTABILIDAD

El clorhidrato de isoproterenol se oscurece gradualmente en exposición al aire y la luz.

Las soluciones acuosas de clorhidrato de isoproterenol se tornan café-rojizas en exposición al aire, y más rápidamente cuando se alcalinizan. Las soluciones acuosas deberán contener un antioxidante como metabisulfito de sodio y se deberá evitar el contacto con metales debido a que producen decoloración y pérdida de la actividad.

El clorhidrato de isoproterenol debe ser almacenado en contenedores protegidos del aire y de la luz.

2.5.7. FARMACOCINETICA

El isoproterenol es un agonista poderoso de los receptores beta- y prácticamente carece de acción sobre los receptores alfa adrenérgicos. Es más potente que la adrenalina aumentando la frecuencia y la fuerza del latido cardiaco, produce vasodilatación en todos los vasos de la economía, sobre todo en el músculo esquelético y disminuye la presión arterial con gran aumento de la frecuencia cardiaca. Es mucho más activo que la noradrenalina para relajar el músculo liso y aumentar la fuerza de contracción del miocardio, producir temblor en el músculo esquelético y estimular la lipólisis y la glucogenólisis.

Su principal uso médico es para aliviar el broncoespasmo en el tratamiento del asma (41, 43, 44). recientemente se ha usado como agente lipolítico para lograr una acción localizada a nivel del muslo, logrando buenos resultados. Sin embargo, requiere ser administrado por vía intramuscular para lograr tal efecto, elevando los riesgos de reacciones secundarias. (27)

El isoproterenol se administra generalmente por vía inhalatoria (aerosol), menos frecuente por vía oral o sublingual, y en algunos casos extremos por vía parenteral. Se absorbe rápidamente cuando se administra por vía parenteral o en forma de aerosol, e impredeciblemente cuando se administra por vía oral o sublingual. Se absorbe pobremente en el estómago, pero se absorbe bien en el intestino delgado, colon proximal, recto y la membrana mucosa de la tráquea.

Se ha observado que la dosis de isoproterenol a ser usada depende de la vía de administración, cuando es administrado por vía intravenosa, el efecto farmacológico se alcanza con pocos miligramos, mientras que cuando se administra por vía oral, se requieren elevadas cantidades para lograr el mismo efecto.

El isoproterenol se comercializa principalmente en forma de clorhidrato en presentación de tabletas sublinguales de 10 mg, cápsulas de acción sostenida de 30 mg y frasco ampolla con 2 mg para disolver en 10 ml de agua para inyección. En presentación de sulfato se comercializa en suspensión al 0.2 y 1% en aerosol.

Las dosis usuales son de 10 mg cada 4 horas por vía sublingüal, 0.15 mg por vía inhalatoria (según la necesidad) y 5 µg por minuto por vía intravenosa.

La vida media plasmática del isoproterenol después de una inyección intravenosa rápida es de 3-5 minutos, mientras que la de una infusión intravenosa es de cerca de 2 horas. Estudios más detallados en niños revelaron que la concentración plasmática de isoproterenol disminuye en forma bifásica, en donde la fase alfa tiene una vida media de 2-3 minutos y la fase beta de 3-7 horas.

Análisis farmacocinéticos han revelado que el isoproterenol presenta una degradación extensiva por efecto de metabolismo de primer paso por conjugación a sulfato o por O-metilación después de una administración oral. Los metabolitos metilados por la catecol-O-metiltransferasa presentan una débil actividad antagonista de los receptores beta.

La excreción del isoproterenol depende en gran parte de la vía de administración, cerca del 90% del isoproterenol administrado por vía intravenosa, es excretado en la orina en 24 horas, principalmente como metabolitos metilados. Después de una inhalación o administración oral de isoproterenol, el 80-95% de la dosis se excreta en la orina principalmente como sulfatos, el 1-2% como fármaco inalterado y el 1-2% como metabolitos metilados libres, además pequeñas cantidades de la dosis son excretadas en la bilis principalmente como metabolitos metilados.

2.5.8 TOXICIDAD Y EFECTOS ADVERSOS

Palpitaciones, taquicardia, dolor de cabeza son comunes, náuseas, temblor, vértigos, debilidad y sudor son menos frecuentes. Se pueden presentar arritmias cardíacas fácilmente, aunque no son de cuidado.

En niños la dosis letal mínima es de 100 mg, cuando se aplica en las membranas mucosas, la dosis letal 50 en ratones es de más de 2 g por kg de peso por vía oral. (41, 42, 44, 45)

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tejido adiposo aunque tiene una distribución generalizada, predomina en determinadas regiones del organismo, especialmente en aquellas que normalmente tienen un pániculo adiposo más grueso (22). El desarrollo de nuevas técnicas para determinar la morfología y metabolismo del adipocito (célula grasa), han hecho posible estudios que sugieren que el tejido adiposo humano no es homogéneo (26). El tejido adiposo del abdomen es más sensible a los efectos lipolíticos (hidrólisis de triglicéridos intracelulares a ácidos grasos y glicerol) por la estimulación beta adrenérgica que el que se presenta en el muslo, esto parece ser debido a la existencia de más receptores beta en el adipocito del abdomen que en el del muslo. (27)

El isoproterenol es un agonista de los receptores beta adrenérgicos y prácticamente carece de acción sobre los receptores alfa adrenérgicos, es muy potente para aumentar la frecuencia y fuerza de contracción del corazón, relajar el músculo liso y estimular la lipólisis. Suele administrarse en aerosol o menos adecuadamente en pulverización y por vía sublingual. Su principal uso médico es para aliviar el broncoespasmo en el tratamiento del asma (41, 43, 44). Recientemente se ha usado como agente lipolítico para lograr una acción localizada a nivel del muslo, logrando buenos resultados. Sin embargo, requiere ser administrado por vía intramuscular para lograr tal efecto, elevando los riesgos de reacciones secundarias. (27)

Los sistemas de liberación transdérmica de fármacos, representan un importante avance tecnológico y terapéutico para la liberación controlada de fármacos a la piel intacta, lo que permite lograr una acción localizada principalmente. Con estos sistemas el fármaco se absorbe de la piel hacia los capilares que pasan bajo la piel y luego a la circulación general, minimizando la variabilidad asociada con la absorción GI de la terapia oral y evitando los riesgos e inconvenientes de la terapia intravenosa. (37)

Por lo tanto, el presente trabajo tiene como finalidad diseñar y elaborar una matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol, que elimine los inconvenientes de las formas de dosificación convencionales y favorezca la penetración del clorhidrato de isoproterenol a través de la piel y lograr así el efecto lipolítico a nivel abdominal deseado.

4. HIPOTESIS

La matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol implementada tendrá las características de apariencia, consistencia y adhesión a la piel necesarias para favorecer la liberación y absorción percutánea del fármaco para lograr así el efecto lipolítico a nivel abdominal deseado.

5. OBJETIVO GENERAL

Diseñar y elaborar una matriz polimérica para la administración transdérmica de clorhidrato de isoproterenol para la reducción de grasa local de la región abdominal humana.

5.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Realizar las pruebas de preformulación para la matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol.
2. Elegir la formulación más adecuada para la matriz polimérica.
3. Realizar las pruebas de difusión del clorhidrato de isoproterenol de la matriz elegida en piel de ratón y cadáver.
4. Evaluar los efectos inmediatos de la matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol elegida en voluntarios sanos.

6. MATERIALES

- * Vasos de precipitados Pyrex (50, 100 y 250 ml.).
- * Tubos de ensayo Pyrex de diferentes capacidades.
- * Pipetas graduadas Pyrex (1, 5 y 10 ml.).
- * Pipetas volumétricas Pyrex (1, 5 y 10 ml.).
- * Bureta Pyrex de 50 ml.
- * Probeta Pyrex de 250 ml.
- * Portaobjetos.
- * Soporte universal.
- * Pinzas de tres dedos.

6.1. EQUIPO

- * Recirculador de agua Cole-Parmer Modelo 1268-00.
- * Balanza analítica Bosch Modelo S-200.
- * Balanza granataria Ohaus Series 700.
- * Agitador mecánico Thermolyne Series 1000.
- * Estufa.
- * Baño de vapor.
- * Celdas de Franz (acondicionadas al laboratorio).

6.2. MATERIAS PRIMAS

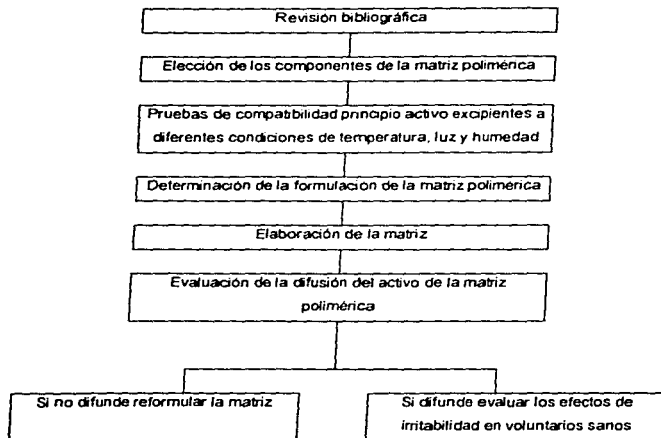
- * Clorhidrato de isoproterenol (Materia prima, Janssen Chimica).
- * Polivinilpirrolidona (Materia prima, Química Barsa S de RL.).

- * Alcohol polivinílico (Materia prima, Glomarza).
- * Glicerol (Materia prima, Química Croda).
- * Propilenglicol (Materia prima, Morchemie, S.A. de C.V.).
- * Acido cítrico (J. T. Baker S.A. de C.V.).
- * Acido ascórbico (J. T. Baker S.A. de C.V.).
- * Bisulfito de sodio (J. T. Baker S.A. de C.V.).
- * Agua destilada.

6.3. MATERIAL BIOLOGICO

- * Piel de ratón (CD1).
- * Piel de cadáver (HUMANO).

7. DIAGRAMA DE FLUJO



8. METODO

8.1. PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD

Se colocaron mezclas por separado de clorhidrato de isoproterenol con polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, glicerol y propilenglicol en proporción (1:1), en frascos viales de vidrio color ambar de 3 ml de capacidad con tapón de hule, durante un período de tres meses a 40°C, temperatura ambiente (25-30°C), 40°C y 80% de humedad relativa.

Se realizaron tres muestreos por duplicado de cada una de las condiciones y mezclas ensayadas a los 30, 60 y 90 días de estudio. A cada una de las muestras se les evaluó además de la apariencia, la presencia de productos de degradación por cromatografía en capa fina, usando como sistema de elución una mezcla de acetato de etilo-etanol (50:50).

No se realizaron pruebas de compatibilidad en luz blanca o U.V., debido a que el principio activo es fotosensible.

8.2. FORMULACION DE LA MATRIZ POLIMERICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL

La formulación de la matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol se realizó a base de polivinilpirrolidona (8%), alcohol polivinílico (15%), glicerol (15%) y agua (cuanto baste para un sistema), de acuerdo con la formulación reportada por Bhalla y Toddywala (46), para la elaboración de películas de efedrina. Además, se evaluaron algunos antioxidantes (Ácido cítrico, ácido ascórbico) y potenciadores de la penetración (Propilenglicol, glicerol) de la piel.

Se realizaron pruebas variando la concentración en un 10, 20 y 30% más y menos de la cantidad inicial de cada uno de los excipientes por separado, para determinar la concentración a la cual la matriz polimérica presentara las mejores características de apariencia, consistencia y adhesión a la piel.

Una vez determinada la concentración de cada uno de los excipientes, se elaboraron matrices en base a tales cantidades, de las cuales se eligieron las que presentó las mejores características ensayadas, para evaluar la prueba de difusión del isoproterenol.

5.3. ELABORACION DE LA MATRIZ POLIMERICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL

En un vaso de precipitados, se mezcló con la ayuda de agitación mecánica y baño de vapor, el glicerol y el agua; se adicionaron el PVP y PVA, manteniendo la agitación y el baño hasta disolver. La mezcla obtenida, se retiró del baño y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

En otro vaso por separado se mezcló el clorhidrato de isoproterenol con ácido cítrico y propilenglicol hasta obtener una mezcla homogénea.

Una vez fría la mezcla de polímeros, se adicionó la mezcla del clorhidrato de isoproterenol, y se mezcló perfectamente, la mezcla resultante se viró en moldes y se secó en la estufa a $30^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$.

5.4. EVALUACION IN VITRO DE LA DIFUSION DEL CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL EN PIEL DE RATON Y DE CADAVER

La evaluación *in vitro* de la difusión del clorhidrato de isoproterenol, se realizó por duplicado en una adaptación al laboratorio de la celda de difusión de Franz (Figura 4). (35)

La celda consistió de un compartimiento receptor de plástico, con un volumen efectivo aproximado de 5 ml de solución y una área superficial de 1.005 cm², inmerso en un recipiente de plástico con entrada y salida de agua, para mantener la temperatura del sistema, la cual se controló con un recirculador de agua Cole-Parmer modelo 1268-00. La solución receptora se agitó a 200 rpm, con la ayuda de un agitador mecánico Thermolyne Series 1000.

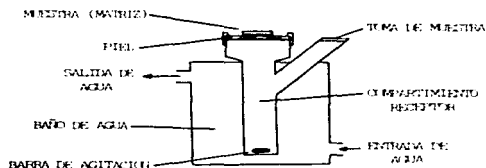


Figura 4. Celda de difusión acondicionada al laboratorio

Se usó piel de la región abdominal de cadáver humano, (Donada por una Institución de salud «Cruz Verde de Balbuena») con un grosor no mayor de 3 mm, mantenida en refrigeración a -4°C hasta momentos antes de su uso, y piel de ratón de raza CD1, de aproximadamente dos meses de edad, con un peso promedio de 90-100 gramos, sacrificado momentos antes de realizar cada el ensayo.

La muestra de piel se colocó entre el compartimiento donador y receptor de la celda de difusión. Se depositó una muestra de 1 cm² de la matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol sobre la superficie de la piel (lado epidérmico) en el compartimiento donador, y solución salina isotónica a 37° ± 0.5°C como medio de disolución en el compartimiento receptor (lado dérmico de la piel).

Se tomaron muestras cada hora durante 8 horas, en las cuales se evaluó la presencia del principio activo por cromatografía en capa fina usando como sistema de elusión una mezcla de etanol-acetato de etilo (25:75).

8.5. EVALUACION DE LA PRUEBA DE IRRITABILIDAD POR LA MATRIZ POLIMERICA DE CLORHIDRATO DE ISOPROTERENOL EN VOLUNTARIOS SANOS

La evaluación se realizó con 10 voluntarios sanos de ambos sexos, con un peso promedio de 50-70 kg y edad entre 20-30 años, que no presentaron antecedentes de hipersensibilidad o alguna alergia en la piel.

Se formaron dos grupos al azar de cinco personas cada uno. A uno de los grupos, se les colocó un placebo de la matriz polimérica, y al grupo restante se les colocó la matriz polimérica con principio activo. A ambos grupos se les monitoreó la presencia de sensibilización o irritación en el lugar de aplicación del sistema, cada hora durante 24 horas.

9. RESULTADOS

Se realizaron las pruebas de compatibilidad principio activo excipiente durante un periodo de tres meses, sometiendo mezclas de principio activo con cada uno de los excipientes a estudiar bajo las siguientes condiciones de temperatura y humedad: 40°C, temperatura ambiente (25-30°C) y 40°C y 80% de humedad relativa. No se realizaron pruebas de compatibilidad en luz blanca o U.V., debido a que el principio activo presentó la característica de ser fotosensible. Se realizaron tres muestreos por duplicado de cada una de las condiciones ensayadas a los 30, 60 y 90 días de estudio. A cada una de las muestras se les determinó la presencia de productos de degradación, y la apariencia. En ninguna de las muestras se observó la presencia de productos de degradación (Tabla I), y la apariencia fué igual que la del estándar (Tabla II).

Tabla I. Presencia de productos de degradación en las pruebas de estabilidad principio activo-excipientes

ISO/EXC	PRIMER MUESTREO 30 DIAS			SEGUNDO MUESTREO 60 DIAS			TERCER MUESTREO 90 DIAS		
	40°C	T	40°C	40°C	T	40°C	40°C	T	40°C
		AMB	80%HR		AMB	80%HR		AMB	80%HR
- PVP	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- PVA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- GLI	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- PG	-	-	-	-	-	-	-	-	-
- AC	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ISO: isoprotirenot; PVP: Polivinilpirrolidona, PVA: Alcohol polivinílico, GLI: Glicerol, PG: Propilenglicol, AC: Acido cítrico.

+: Presencia de productos de degradación.

-: Ausencia de productos de degradación.

Tabla II. Evaluación de la apariencia en las pruebas de estabilidad principio activo-excipientes

ISO/EXC	PRIMER MUESTREO 30 DIAS			SEGUNDO MUESTREO 60 DIAS			TERCER MUESTREO 90 DIAS		
	40°C	T AMB	40°C 80%HR	40°C	T AMB	40°C 80%HR	40°C	T AMB	40°C 80%HR
- PVP	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
- PVA	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
- GLI	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
- PG	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC
- AC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC	SC

C: Cambios en la apariencia de la muestra.

SC: Sin cambios en la apariencia de la muestra

La presencia de productos de degradación se determinó por cromatografía en capa fina, usando como sistema de elusión una mezcla de acetato de etilo-etanol (50:50) Se eligió este sistema de elusión porque presentó los mejores Rf (0.32-0.55) de todos los sistemas ensayados.

La formulación de la matriz polimérica del clorhidrato de isoproterenol se realizó tomando como base la formulación reportada por Bhalla y Toddywala para la elaboración de películas de efedrina. Se elaboraron matrices de acuerdo a la formulación reportada, y se observó que se obtenían sistemas muy rígidos, quebradizos y con poca adhesión a la piel. Debido a esto, se elaboraron matrices en las cuales se varió la concentración inicial de PVP, PVA y Glicerol por separado.

Se observó que cuando se aumentaba la cantidad de polímeros o se disminuía la cantidad de glicerol, se obtenían sistemas igualmente rígidos y con poca adhesión a la piel, en cambio cuando se disminuyó la cantidad de polímeros o se aumentó la cantidad de glicerol, los sistemas presentaron ligera flexibilidad y mayor adhesión a la piel. (Tabla III,IV,V)

Además de variar las concentraciones de PVP, PVA y glicerol, se probaron varias concentraciones de Propilenglicol (PG) dentro de la matriz, para ayudar a la liberación del activo, y se observó que los mejores resultados se obtenían cuando se adicionaba en una concentración del 2.5%. La resistencia del sistema disminuyó notablemente cuando se adicionaron concentraciones mayores al 2.5% de PG. (Tabla VI)

Tabla III. Variación de PVP en la formulación de la matriz polimérica.

% PVP	APARIENCIA DEL SISTEMA	CONSISTENCIA DEL SISTEMA	ADHESION A LA PIEL
INICIAL	BUENA	RIGIDO	MALA
- 30 %	REGULAR	FLEXIBLE	EXCELENTE
- 20 %	BUENA	FLEXIBLE	EXCELENTE
- 10 %	BUENA	FLEXIBLE	BUENA
+ 10 %	BUENA	RIGIDO	MALA
+ 20 %	BUENA	RIGIDO	MALA
+ 30 %	REGULAR	RIGIDO	MALA

Tabla IV. Variación de PVA en la formulación de la matriz polimérica.

% PVA	APARIENCIA DEL SISTEMA	CONSISTENCIA DEL SISTEMA	ADHESION A LA PIEL
INICIAL	BUENA	RIGIDO	MALA
- 30 %	REGULAR	FLEXIBLE	EXCELENTE
- 20 %	BUENA	FLEXIBLE	EXCELENTE
- 10 %	BUENA	FLEXIBLE	BUENA
+ 10 %	BUENA	RIGIDO	MALA
+ 20 %	BUENA	RIGIDO	MALA
+ 30 %	REGULAR	RIGIDO	MALA

Tabla V. Variación de GLI en la formulación de la matriz polimérica.

% GLI	APARIENCIA DEL SISTEMA	CONSISTENCIA DEL SISTEMA	ADHESION A LA PIEL
INICIAL	BUENA	RIGIDO	MALA
- 30 %	MALA	RIGIDO	MALA
- 20 %	MALA	RIGIDO	MALA
- 10 %	REGULAR	RIGIDO	MALA
+ 10 %	BUENA	FLEXIBLE	REGULAR
+ 20 %	BUENA	FLEXIBLE	BUENA
+ 30 %	EXCELENTE	FLEXIBLE	EXCELENTE

Tabla VI. Variación de PG en la formulación de la matriz polimérica.

% PG	APARIENCIA DEL SISTEMA	CONSISTENCIA DEL SISTEMA	ADHESION A LA PIEL	RESISTENCIA DEL SISTEMA	LIBERACION DE ACTIVO
Sin PG	BUENA	FLEXIBLE	BUENA	BUENA	-
1.0	BUENA	FLEXIBLE	EXCELENTE	BUENA	-
2.0	BUENA	FLEXIBLE	EXCELENTE	BUENA	+
2.5	BUENA	FLEXIBLE	EXCELENTE	BUENA	+
5.0	BUENA	FLEXIBLE	BUENA	MALA	+

Se continuó con las pruebas variando la concentración de los excipientes, y se llegó a las siguientes formulaciones que presentaron las mejores características de apariencia, consistencia y adherencia a la piel (Tabla VII). A cada una de estas formulaciones se realizó la prueba de difusión del activo del sistema en piel de ratón y cadáver.

Tabla VII. Serie de Formulaciones de la matriz polimérica.

SISTEMA	CONCENTRACIÓN DE EXCIPIENTES (%)					
	ISO	PVP	PVA	GLI	PG	AC
S1	2	8	15	15	-	-
S2	4	5	21	35	-	0.05
S3	4	6	19	30	-	0.05
S4	4	6	21	35	-	0.05
S5	4	6	21	40	2.5	0.05
S6	4	6	21	40	5	0.05

S1: Sistema 1, S2: Sistema 2, S3: Sistema 3, S4: Sistema 4, S5: Sistema 5, S6: Sistema 6

Las pruebas de difusión *in vitro* se realizaron por duplicado para cada uno de los ensayos, en una adaptación al laboratorio de las celdas de difusión de Franz. Se usó solución salina isotónica a $37^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ como solución receptora y piel de cadáver humano con un grosor no mayor de 3 milímetros, mantenida en refrigeración a -4°C hasta el momento del ensayo, y piel de ratón de raza CD1 de aproximadamente dos meses de edad y un peso promedio de 90-100 gramos, sacrificado momentos antes del ensayo. En cada uno de los ensayos realizados se tomaron muestras cada hora durante ocho horas de la solución receptora, en la cual se evaluó la presencia de isoproterenol por cromatografía en capa fina, usando como sistema de elución una mezcla de acetato de etilo-etanol (25:75).

En la mayoría de las pruebas de difusión con piel de ratón se observó que los sistemas se disolvían considerablemente en la interface piel/sistema, lo que pudo provocar la mayor permeabilidad al isoproterenol. En los ensayos con piel de ratón de manera general la mancha correspondiente al activo se presentó en promedio en un tiempo menor, en comparación con la piel de cadáver en la cual no se observó disolución notable del sistema en la interface piel/sistema.

Tabla VIII. Pruebas de difusión *in vitro* de la matriz polimérica elegida.

SISTEMA	DIFUSION DE ACTIVO (MIN)	
	PIEL DE CADAVER	PIEL DE RATON
- S1	-	-
- S2	120	90
- S3	110	75
- S4	90	60
- S5	70	45
- S6	50	35

Una vez concluidas las pruebas de difusión se realizó la prueba de irritabilidad de la formulación elegida en voluntarios sanos y no se observó en ningún caso presencia de irritabilidad en el sitio de aplicación durante el tiempo de estudio.

Todos los ensayos de evaluación con el clorhidrato de isoproterenol se realizaron únicamente por duplicado, debido a la poca cantidad de materia prima disponible para el desarrollo del proyecto, motivo por el cual no se cuantificó en ninguno de los ensayos el activo.

10. ANALISIS DE RESULTADOS

Como se muestra en la tabla I, no se presentaron productos de degradación en ninguna de las mezclas principio activo-excipientes ensayadas, lo que implicó que los excipientes probados podían ser usados para la formulación de la matriz polimérica con la seguridad de que sería estable. Sólo se evaluaron en las pruebas de compatibilidad los excipientes reportados por Bhalla y Toddywala para la elaboración de películas de efedrina, considerando la similitud en la estructura química de la efedrina y el isoproterenol.

El sistema de elusion usado para determinar los productos de degradación durante el estudio, aún a pesar de presentar los mejores Rt de todos los sistemas ensayados durante el estudio, no logró definir totalmente las manchas de vanos de los excipientes, debido a su compleja estructura química (polímeros). Sin embargo, en la mayoría de los casos fue posible la identificación de la mancha correspondiente al isoproterenol al comparar las muestras contra un estándar de isoproterenol.

Durante el estudio de la formulación de la matriz polimérica, se observó que aumentando la cantidad de PVA o PVP en la formulación inicial del sistema, o disminuyendo la cantidad de glicerol, se obtenían sistemas más rígidos, quebradizos y con poca adhesión a la piel, mientras que disminuyendo la cantidad de PVA o PVP en la formulación o aumentando la cantidad de glicerol se obtenían sistemas más flexibles, suaves y con mayor adhesión a la piel. Esto es debido a que al aumentar las cantidades de PVA o PVP aumenta la proporción polimérica del sistema, lo que provoca una mayor rigidez en la estructura de la matriz (Tabla III, IV), además de reducir notablemente la liberación del activo de la red polimérica.

Por otro lado, se observó que una disminución en la cantidad de PVP o PVA combinado con un aumento de la cantidad de glicerol en el sistema, producían sistemas con buena apariencia y flexibilidad, además de buena adhesión a la piel, debido a que el glicerol provoca una mayor flexibilidad a la estructura de la red polimérica.

Considerando lo anterior, se realizaron pruebas disminuyendo la cantidad de polímeros y aumentando la cantidad de glicerol hasta obtener un sistema con las características deseadas.

Se observó que disminuyendo la cantidad de PVP, y aumentando las cantidades de PVA y glicerol, en una proporción similar, se obtenían sistemas muy suaves, flexibles y con muy buena adhesión a la piel, pero poco resistentes. Este problema se corrigió aumentando ligeramente la cantidad de PVA. Sin embargo, durante la evaluación de la difusión del isoproterenol, se observó que estos sistemas eran aún poco resistentes, pero liberaban el isoproterenol rápidamente, por lo cual se determinó aumentar la cantidad de PVP en el sistema. Sin embargo, estos sistemas presentaron buena resistencia pero disminuyó notablemente la liberación del activo. Se probaron varias concentraciones de PVP y en todos los casos se presentaron los mismos resultados en cuanto a la liberación del activo, pero se observó que la resistencia del sistema mejoró notablemente. Considerando esto, se determinó incluir en la formulación del sistema PG para que ayudara a la liberación del activo sin afectar la resistencia del sistema.

Se probaron varias concentraciones del PG dentro del sistema y se observó que los mejores resultados en cuanto a los tiempos de liberación del activo, se obtenían cuando se adicionaba en una concentración del 2.5% (Tabla VI). La resistencia del sistema se vio afectada cuando se adicionaban concentraciones mayores al 2.5% de PG.

Por otro lado, durante el estudio de la formulación de la matriz, se observó que la apariencia y consistencia de los sistemas dependía notablemente además de la proporción de los excipientes en la formulación, del tiempo de secado del sistema. Al aumentar los tiempos de secado se obtenían sistemas más rígidos y quebradizos con muy poca adhesión a la piel, mientras que disminuyendo los tiempos de secado se obtenían sistemas más suaves y flexibles con mayor adhesión a la piel, esto fue debido a que la cantidad de agua perdida por el sistema fue mayor cuando los tiempos de secado fueron mayores. El tiempo de secado óptimo fue de 30-32 horas a $30^{\circ} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$. La temperatura en todos los casos se trató de mantener constante para evitar variaciones.

Durante la evaluación de la difusión del isoproterenol de los sistemas en piel de ratón, se observó que la mayoría de los sistemas a los que se les aumentó solo la cantidad de PVA y glicerol presentaban una disolución notable en la interface piel/sistema, lo que favoreció de manera notable la difusión del activo.

Los sistemas a los que se les aumentó la cantidad de polímeros eran más resistentes y la disolución del sistema era menos apreciable, pero liberaban más lentamente o en su caso no liberaban el isoproterenol del sistema, debido a la rigidez de la estructura de la matriz. En los ensayos con piel de cadáver, no se observó en ninguno de los casos disolución notable de los sistemas en la interface piel/sistema, y los tiempos en los que se observó la mancha del activo en las muestras fue mayor.

Los sistemas a los cuales se les adicionó PG para ayudar a la liberación del activo, presentaron mayor resistencia y mejores tiempos de liberación del activo (Tabla VII, VIII) en todos los ensayos realizados con piel de ratón y cadáver.

En todos los ensayos de difusión realizados, se observó que la piel de ratón fue más permeable que la piel de cadáver, como era de esperarse, debido a las diferencias de permeabilidad de cada uno de los tipos de piel. Además de las diferencias de permeabilidades, la difusión del activo en cada uno de los ensayos se pudo ver afectada por algunos factores tales como grosor de la piel, tiempo de preparación de la piel, tamaño de la muestra ($1-1.5 \text{ cm}^2$) y la temperatura de la solución receptora.

En los ensayos con piel de ratón, la piel se obtenía momentos antes de realizar el ensayo y su grosor no era mayor de 1 mm, mientras que la piel de cadáver se mantenía en refrigeración a -4°C , hasta el momento de su uso y su grosor en la mayoría de los casos fue de 2 mm o más.

En teoría, la piel de cadáver no debería sufrir daño o cambio en sus características bajo estas condiciones de conservación. Sin embargo, debido a las limitaciones del laboratorio, el grosor mínimo de la piel de cadáver con que se trabajó fue de 2 mm, que representó el doble de grosor de la piel de ratón. La posible variación por el tamaño de la muestra y la temperatura de la solución receptora fue menor ya que se trataron de mantener constantes durante todos los ensayos.

El sistema 5 se eligió para realizar las pruebas de irritabilidad por presentar los mejores tiempos de liberación. Durante el tiempo de estudio, no se presentaron reacciones de sensibilidad o irritabilidad en el sitio de acción, ninguno de los sujetos de estudio.

El sistema presentó buenas características de adhesión a la piel y buena resistencia mecánica.

En uno de los sujetos de estudio, se presentó una reacción de irritabilidad en la periferia del sitio de aplicación, debido al adhesivo usado para adherir el sistema a la piel.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

11. CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

La matriz polimérica diseñada e implementada a base de PVP, PVA, GLI, PG y Agua, tiene las características de apariencia, consistencia, adhesión a la piel y liberación del activo adecuadas para desarrollar un sistema de liberación transdérmico con fines lipolíticos a nivel abdominal.

La matriz polimérica diseñada, es estable debido a que los componentes de la matriz polimérica no presentaron reacciones de incompatibilidad con el clorhidrato de isoproterenol durante el tiempo de estudio y bajo las condiciones ensayadas.

La matriz polimérica tiene las características necesarias, para liberar el activo a la piel, en tiempos adecuados.

La matriz polimérica de clorhidrato de isoproterenol, es segura e inocua.

El método de elaboración de la matriz polimérica, es rápido, sencillo y de bajo costo.

La evaluación cualitativa del clorhidrato de isoproterenol, no se efectuó debido a la poca cantidad de activo disponible, por lo cual se sugiere continuar el proyecto con los recursos necesarios para efectuar tales determinaciones.

12. REFERENCIAS

1. Chien W Y. Logics of transdermal controlled drug administration. *Drug Dev Indus Pharm* 1983; 9: 497-520.
2. Anthony P C, Thibodeiw A G. Anatomía y fisiología. 10a. ed. México: Editorial Interamericana-McGraw-Hill, 1983: 68-71.
3. Parrish A J. Dermatología. México: Edit. El Manual Moderno, S A., 1978.
4. Block H L. Aplicaciones medicinales. En: Remington. Farmacia. 17a ed. Buenos Aires Argentina; Editorial Panamericana, 1987: vol. 2: 2126-2134, 2260-2261.
5. Strand L F. Fisiología humana, un enfoque hacia los mecanismos reguladores. México: Nueva Editorial Interamericana, 1982: 313-318.
6. Cortes J L. Dermatología clínica. 2a. ed. México: Edit. El Manual Moderno, S.A., 1982.
7. Bargmann W. Histología y anatomía microscópica humana. 2a. ed. España: Edit. Labor S.A., 1964:
8. Chien W Y, Siddiqui O, Shi M W, Lelawongs P, Liu C J. Direct current iontophoretic transdermal delivery of peptide and protein drugs. *J Pharma Sci* 1989; 78: 376-383.
9. Beck S W. Fisiología celular y sistemática. México: Publicaciones cultural S. A., 1977: 773-781.

10. Ham W A, Cormack H D. Tratado de histología. 8a. ed. México: Nueva editorial Interamericana, 1985: 265-270, 555.
11. Lachman L, Lieberman A H, Kanig L J. The theory and practice of industrial pharmacy. 3a. ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger, 1986: 534 -544.
12. Lesson C R, Lesson S T, Paparo A A. Histología. 5a. ed. México: Editorial Interamericana, 1987: 314.
13. Steigleder K G. Dermatología y venerología. Barcelona España: Salvat Editores S.A., 1988:
14. Amado S. Lesiones dermatológicas. 9a. ed. México: Francisco Mendez Cervantes Editor, 1979:
15. Walters A K. Percutaneous absorption and transdermal therapy. *Pharm Technol* 1986; 10: 30-44.
16. Pfister R W, Hsieh T D. Permeation enhancers compatible with transdermal drug delivery systems, part 1: selection and formulation considerations. *Pharm Technol* 1990; 14: 132-140.
17. Golden M G, Mckie E J, Potts O R. Role of stratum corneum lipid fluidity in transdermal drug flux. *J Pharm Sci* 1987; 76:1: 25-28.
18. Chien W Y. Advances in transdermal systemic medication. En: Chien W Y. Transdermal controlled systemic medication. USA: Marcel Dekker, Inc. 1987: vol. 31: 1-15.
19. Walters A K. Penetration enhancers and their use in transdermal therapeutic systems. En: Hadgraft J, Guy R H. Transdermal drug delivery. Marcel Dekker, 1989: 197-233.

20. Ansel H C, Popovich G N. Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 5a. ed. USA: Editorial Lea & Febiger, 1990: 307-346.
21. Waseem A M, Smith E R. Topical drug delivery systems (skin). En: Banker S G, Chalmers K R. Pharmaceuticals and pharmacy practice. Philadelphia, USA: Edit. J.B. Lippincott Company, 1982: 283-294.
22. Fawcett W D. Tratado de histología. 11a. ed. México: Editorial Interamericana-McGraw-Hill, 1989: 174-185.
23. Hirsch J, Fried K S, Edens K N, Leibel L R. Celula grasa. En: Clinicas médicas de norteamérica. Obesidad, aspectos básicos y aplicaciones clínicas. México: Editorial Interamericana, 1989: vol. 1: 95-111.
24. Motulsky H J, Insel A P. Adrenergic receptors in man, direct identification, physiologic regulation and clinical alteration. *N Engl J Med* 1982; 307: 18-29.
25. Herrera C E, Lasuncion A M. Fisiología del tejido adiposo blanco. En: La obesidad 97-114.
26. Krokiewski M, Björntorp P, Sjöström L, Smith V. Impacto of obesity on metabolism in men and women, importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983; 72: 1150-1162.
27. Greenway L F, Bray A G. Regional fat loss from the thigh in obese woman after adrenergic modulation. *Clin Ther* 1987; 9: 663-669.
28. Trillas S, Cano P. Obesidad. En: Piedrola G G. Medicina preventiva y salud pública. 9a. ed. México: Editorial Mason Salvat, 1991: 347-360.
29. Stark E T R, Vash D P. Obesity. En: Saunders C. Current therapy. México: Editorial Interamericana, Editado por Robert E R, 1992: 509-515.

30. Casillas E L, Vargas L A. La distribución de grasa corporal, posible factor de riesgo para la salud. *Cuadernos de Nutrición* 1993; 16: 7-15.
31. Saldaña C R. Obesidad. España: Editorial Martínez Roca, 1988: 17-119.
32. Fricker J, Apfelbaum M. El metabolismo de la obesidad. *Mundo Científico* 1989; 9: 404-412.
33. Casillas E L. Obesidad, Delgadez, Lipodistrofia. *Cuadernos de Nutrición* 1985; 10: 15-20.
34. Barr M. Percutaneous Absortion. *J Pharma Sci* 1962; 51: 5: 395-409.
35. Tojo K. Desing and calibration of *in vitro* permeation apparatus. En: Chien W Y. Transdermal controlled systemic medication. USA: Marcel Dekker, Inc. 1987: vol. 31: 127-158.
36. Monkhouse C D, Huq S A. Transdermal drug delivery, problems and promises. *Drug Dev Indus Pharm* 1988; 14: 183-209.
37. Aziz K. Transdermal absortion, unique oportunity for constand delivery of nitroglycerin. *Drug Dev Indus Pharm* 1983; 9: 671-689.
38. Baker R. Controlled release of biologically active agents. USA: John Wiley & Sons, 1987: 239-245.
39. Govil K S. Transdermal drug delivery devices. En: Tyle P. Drug delivery devices: fundamentals and applications. USA: Marcel Dekker, 1988: vol. 1: 385-419.
40. Hymes A C, Rolf D. Transdermal delivery of drugs. USA: CRC Press, 1987: vol. 1: 157.

41. Mohammad T, Abdullah A. Isoproterenol. En: Florey K. *Analytical profiles of drug substances*. New Jersey, USA: Academic press, inc., 1973; vol. 14: 391-423.
42. Litter M. *Farmacología experimental y clínica*. 7a. ed. Argentina: Editorial El Ateneo, 1986: 472-493.
43. The Merck Index and encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 11a. ed. Publicado por Merck & Co. Rahway N.J. USA., Susan Budavario Editor, 1989: 821.
44. Goodman G A, Rall W.T, Nies S A, Taylor P. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, 8a. ed. México: Edit. Médica Panamericana, 1991: 167-168.
45. Bowman C W, Rand J M. *Farmacología, bases bioquímicas y patológicas*. 2a. ed. México: Editorial Interamericana, 1984: 9.13-9.15, 11.22-11.28.
46. Bhalla L H, Toddywala D R. Transdermal films of ephedrine. *Drug Dev Indus Pharm* 1988; 14: 119-131.